Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Path.

STATE UNIVERSITY OF IOWA LIBRARY

Class 615.05
Book Z48
Acc. 170193
Pt1 v.5

170193 v.5 pt.1

Zeitschrift für im-
munitätsforschung
1910

DATE	ISSUED TO

Library Bureau

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

UNIVERSITY OF IOWA
3 1858 021 094 788

Date Due

APR 8 '97			

Library Bureau Cat. no. 1137

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

STATE UNIVERSITY OF IOWA LIBRARY

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von:

H. Apolant, Frankfurt a. M., **V. Babes**, Bukarest, **O. Bail**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Besredka**, Paris, **J. Bordet**, Brüssel, **A. Breinl**, Liverpool, **L. Brieger**, Berlin, **A. Calmette**, Lille, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Wien, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Heidelberg, **P. Ehrlich**, Frankfurt a. M., **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Frosch**, Berlin, **G. Gaffky**, Berlin, **M. von Gruber**, München, **M. Hahn**, München, **A. Heffter**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **S. Kitasato**, Tokio, **R. Koch**, Berlin, **W. Kolle**, Bern, **W. Kruse**, Königsberg i. Pr., **K. Landsteiner**, Wien, **C. Levaditi**, Paris, **L. von Liebermann**, Budapest, **F. Loeffler**, Greifswald, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **E. Metschnikoff**, Paris, **L. Michaelis**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **C. Moreschi**, Pavia, **P. Th. Müller**, Graz, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. Ostertag**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **P. Römer**, Marburg, **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Berlin, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. Wassermann**, Berlin, **W. Weichardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER (Berlin.) **R. KRAUS** (Wien.) **H. SACHS** (Frankfurt a. M.) **P. UHLENHUTH** (Gr.-Lichterfelde-Berlin.)

Fünfter Band.

Mit 7 Tafeln, sowie 1 Figur und 5 Kurven im Text.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1910.

Generated on 2019-01-12 21:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

STATE UNIVERSITY
OF IOWA
LIBRARY

Alle Rechte vorbehalten.

Generated on 2019-01-12 21:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1. (Ausgegeben am 9. März 1910.)

Seite

Da Fano, C., Zelluläre Analyse der Geschwulstimmunitätsreaktionen. [Aus dem Imperial Cancer Research, London (Direktor: Dr. E. F. Bashford).] Mit Tafel I—IV 1

Mc Intosh, James, Observations on the Wassermann reaction, with special reference to the influence of specific treatment upon it. [From the Bacteriological Laboratory, London Hospital] 76

Wilenko, M., Ueber das Präzipitationsvermögen pflanzlicher Eiweißstoffe. [Aus dem Pathologischen und Bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalt in Czernowitz (Vorstand: Pros. Dr. H. Raubitschek)] 91

Orsini, Emilio, Aktive Anaphylaxie durch Bakterienpräparate. [Aus dem Serotherapeutischen Institute in Mailand (Vorstand: Prof. S. Belfanti)] 104

Bogomolez, A., Ueber die Lipoidanaphylaxie. Erste Mitteilung. [Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kaiserl. Universität in Odessa (Direktor: Prof. W. Woronin)] 121

Heft 2 und 3. (Ausgegeben am 26. März 1910.)

Doerr, R., und **Moldovan, J.,** Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien] 125

Donati, A., Ueber die natürliche Immunität gegen Milzbrand. [Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität in Turin (Direktor: Prof. B. Morpurgo)] 142

Path

Digitized by Google

170193

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:43 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

Doerr, R., und **Moldovan, J.,** Beiträge zur Lehre von der Anaphylaxie. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien] 161

Davidsohn, Heinrich, Ueber den Einfluß der Inaktivierung und stärkerer Erhitzung auf die Alkalität des Serums. [Aus den Bakteriologischen Laboratorien des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin] 182

Bauer, Julius, Untersuchungen über die antiproteolytisch wirkende Substanz im Harn und Serum. [Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie (Vorstand: Hofrat R. Paltauf) und der III. medizinischen Klinik (Vorstand: Geh.-Rat v. Strümpell) in Wien] 186

Stern, Margarete, Ueber die Bewertung der unsicheren und „paradoxen" Reaktionen bei der serodiagnostischen Untersuchung der Syphilis. [Aus der Kgl. Universitätsklinik für Hautkrankheiten (Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Neisser), Serodiagnostische Abteilung (Privatdozent Dr. Bruck)] 201

Mulzer, P., Zur Technik und praktischen Verwertung der Wassermannschen Reaktion 236

Eisler, M. von, und **Laub, M.,** Ein Beitrag zur Kenntnis der Avidität der Agglutinine. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf] . . . 248

Onaka, M., Ueber die passive Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit bei Meerschweinchen. [Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorstand: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann)] 264

Ungermann, E., Beitrag zur Kenntnis der Ursachen der Pneumokokkenimmunität, insbesondere zum Verhalten „serumfester" Pneumokokkenstämme. [Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte zu Berlin] 269

Szily, Aurel von, Ueber die agglutinationsvermittelnde Funktion des Kreuzspinnengiftes. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)] 280

Mita, Sadanori, Ueber die Verwertbarkeit des anaphylaktischen Temperatursturzes zur Größenbestimmung eines Ueberempfindlichkeitsshocks. [Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der k. k. Universität Graz (Vorstand: Prof. Dr. J. Kratter).] Mit 5 Kurven im Text 297

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Heft 4. (Ausgegeben am 19. April 1910.)

Seite

Wendelstadt, H., und **Fellmer, T.,** Einwirkung von Kaltblüterpassagen auf Nagana- und Lewisi-Trypanosomen. II. Mitteilung. [Aus dem Laboratorium von Prof. Wendelstadt in Bonn.] Mit 2 Tafeln 337

Sobernheim, G., Ueber Tuberkulose-Antikörper. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle (Direktor: Geh.-Rat C. Fraenkel) und dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geh.-Rat Proskauer)] 349

Seligmann, E., und **Pinkus, F.,** Beiträge zur Theorie und Praxis der Wassermannschen Reaktion. [Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin und der Krankenstation des städtischen Obdachs] . 377

Baecher, St., und **Hachla, J.,** Zur Kritik der Prüfungsmethoden des Meningokokkenserums. [Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institute in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf] 404

Ohkubo, Sakaye, Ueber bakterizide, hämolytische, komplement- und giftbindende Eigenschaften der lipoidartigen Bestandteile der Pyocyanase. [Aus dem Laboratorium Metschnikoffs am Pasteurschen Institut in Paris] 428

Yoshimoto, Misao, Ueber die Komplementbindungsreaktion bei der Schistosomum-Krankheit in Japan. [Aus der Universitätskinderklinik zu Kyoto (Direktor: Prof. Dr. I. Hirai)] 438

Raubitschek, H., und **Wilenko, M.,** Ueber den Zusammenhang der hämagglutinierenden und präzipitierenden Fähigkeit pflanzlicher Antigene. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalt in Czernowitz] 446

Selter, H., Ueber die Dysenteriegifte. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn] 458

Magnus, Werner, und **Friedenthal, Hans,** Verhalten sich die somatischen und Geschlechtszellen der Pflanzen serobiologisch wie artfremde Zellen? 505

Heft 5. (Ausgegeben am 4. Mai 1910.)

Karasawa, M., Ueber Anaphylaxie, erzeugt mit pflanzlichem Antigen. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf] 509

Weiß, Hugo, und **Tsuru, J.,** Ueber den Einfluß des anaphylaktischen Shocks auf das Blut. [Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.] Mit 1 Figur im Text 516

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

Schenk, Ferdinand, Ueber das Verhalten des Komplements bei der Tuberkulinreaktion. [Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag; Vorstand: Prof. F. Hueppe] 532

Skwirsky, P., Ueber den Mechanismus der Komplementbindungen. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin; Vorstand: Prof. Dr. L. Michaelis] 538

Hecht, Hugo, Zur Technik der Seroreaktion bei Syphilis. [Aus der k. k. dermatologischen Klinik (Prof. K. Kreibich) in Prag] . . 572

Sleeswijk, J. G., Zur Komplementfrage in der Serumanaphylaxie. [Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorstand: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann)] 580

Müller, Paul Th., Ueber die Chloroformlöslichkeit von Typhusantigen bei Gegenwart von Lecithin. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz] 587

Amako, Tamie, Experimentelle Beiträge zur Biologie der Dysenteriebacillen. [Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann)] 610

Sobernheim, G., Beitrag zur Frage der Bakterienanaphylaxie. [Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geheimrat Prof. Proskauer)] 619

Bürgers, Th. J., Ueber den Gehalt und Bau der Alexine und Opsonine im mütterlichen und fötalen Serum. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg (Direktor: Prof. Dr. W. Kruse)] 638

Galli-Valerio, B., Peut-on utiliser Mus rattus et M. decumanus pour le diagnostic des taches de sang par le procédé d'anaphylaxie? [Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne] 659

Heft 6. (Ausgegeben am 21. Mai 1910.)

Goldschmid, Edgar, Die Verbreitung des Piroplasma canis im Organismus infizierter und mit Arsenpräparaten behandelter Hunde. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).] Mit 1 Tafel 663

Novotný, J., und **Schick, B.,** Vaccineinfektion des Kaninchens durch intrakutane Injektion von Kuhpockenlymphe. [Aus der k. k. Pädiatrischen Klinik (Vorstand: Hofrat Prof. Escherich) und dem k. k. Serotherapeutischen Institut (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf] 688

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

v. Dungern, Ueber passive Uebertragung der Immunität gegen Hasensarkom. [Aus dem Institut für Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Exzellenz Czerny)] 695

Takemura, M., Sind Methylenblau und Hämatoxylin Antigene? [Aus dem Institut für Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Exzellenz Czerny)] 697

Krusius, Franz F., Zur biologischen Sonderstellung der Linse. [Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie (Vorstand: Prof. Dr. Römer) und aus der Universitäts-Augenklinik (Direktor: Prof. Dr. Bach) zu Marburg] 699

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Autorenverzeichnis.

Amako 610.
Baecher und Hachla 404.
Bauer, J. 186.
Bogomolez 121.
Bürgers 638.
Da Fano 1.
Davidsohn 182.
Doerr und Moldovan 125, 161.
Donati 142.
v. Dungern 695.
v. Eisler und Laub 248.
Galli-Valerio 659.
Goldschmid, E. 663.
Hecht, H. 572.
Karasawa 509.
Krusius, F. F. 699.
Magnus und Friedenthal 505.
Mc Intosh 76.
Mita 297.
Müller, P. Th. 587.
Mulzer 236.
Novotný und Schick 688.
Ohkubo 428.
Onaka 264.
Orsini 104.
Raubitschek und Wilenko 446.
Schenk, F. 532.
Seligmann und Pinkus 377.
Selter 458.
Skwirsky 538.
Sleeswijk 580.
Sobernheim 349, 619.
Stern, M. 201.
v. Szily 280.
Takemura 697.
Ungermann 269.
Weiß und Tsuru 516.
Wendelstadt und Fellmer 337.
Wilenko 91.
Yoshimoto 438.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. V. No. 1.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Imperial Cancer Research, London (Direktor: Dr. E. F. Bashford).]

Zelluläre Analyse der Geschwulstimmunitätsreaktionen.

Von **C. Da Fano** (Mailand).

Mit 4 Tafeln.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Oktober 1909.)

Unter den verschiedenen Tatsachen, welche die experimentelle Krebsforschung ans Licht gebracht hat, tritt eine besonders hervor, nämlich die Möglichkeit, kleine Laboratoriumstiere (Mäuse und Ratten) gegen Krebs zu immunisieren. Diese Tatsache wurde von verschiedenen Beobachtern in mehreren Laboratorien bestätigt und zog die Aufmerksamkeit der Untersucher auf sich, da durch sie eine gewisse Hoffnung gegeben ist, eine rationelle Heilungsmethode im Laufe der Zeit zu erreichen. Untersuchungen wurden alsbald angestellt, um diese besondere Form von Immunität zu erklären; bis jetzt aber ohne wesentlichen Erfolg. Alle Versuche, eine Analogie mit anderen bekannten Formen der Immunität nachzuweisen, insbesondere eine in vitro demonstrierbare Veränderung im Blutserum von Krebsimmuntieren zu beweisen, sind erfolglos geblieben. Die einzigen positiven Resultate auf diesem Gebiet erbrachten die in diesem Laboratorium gemachten Versuche, die Art der Widerstandsfähigkeit gegen Krebsübertragung und die Veränderungen des Bindegewebes in den ersten Stadien der Entwicklung des überimpften Tumorstückes bei normalen und Immuntieren festzustellen. Dieselben sind der Ausgangspunkt meiner eigenen Untersuchungen gewesen.

Zuerst wurden die Bindegewebsveränderungen bei Carcinomen, die sich spontan resorbieren, studiert. Danach wurden Vergleiche zwischen diesen Veränderungen, und denen, die man bei Einimpfung von malignen Geschwülsten in Immun-

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

tieren beobachten kann, gemacht. Nach der Durchforschung einer Anzahl von mikroskopischen Präparaten zeigte es sich notwendig, die Untersuchungen auf weitere Gebiete auszudehnen. Die Bindegewebsreaktion wurde sowohl nach Immunisieren mit Geschwülsten als auch mit Embryonenhaut oder Blut verfolgt, ferner ebenfalls die Bindegewebsveränderung, welche durch Einimpfung verschiedener Mengen von durch Hitze oder Kälte abgetöteten Geschwülsten hervorgerufen ist. Schließlich habe ich die Bindegewebsveränderung nach Einimpfung von Spontantumoren, die, wie man weiß, sich schlecht entwickeln, untersucht.

Der Klarheit halber schien es mir nötig, auch etwas über die Nomenklatur und Struktur der Bindegewebselemente vorauszuschicken.

Material und Methodik.

Die Untersuchungen, welche ich in dieser Arbeit besprechen will, sind mit Mäusen und Mäusecarcinomen gemacht worden. Zum Studium des Bindegewebes von Normal- oder Immunmäusen sind kleine Stückchen von lockerem subkutanen Bindegewebe mit scharfen Scheren abgeschnitten und in verschiedenen Flüssigkeiten fixiert worden.

Um die Geschwülste zu transplantieren, habe ich mich der in diesem Institute gebräuchlichen Methoden bedient. Dieselben sind schon von Bashford in verschiedenen Arbeiten, neuerdings auch in dieser Zeitschrift (Bd. 1, p. 457) beschrieben worden. Für die kleinen Dosen habe ich namentlich die Hohlnadelmethode angewendet, womit man den Vorteil hat, kleine Bruchstücke so intakt wie möglich einzuführen. Für größere Dosen habe ich die kalibrierte Glasspritze gebraucht, nachdem die Tumoren zu einer gleichmäßigen Emulsion verarbeitet worden waren.

Für die Einimpfung von Embryonenhaut sind dieselben Methoden gebraucht worden. Für die Bluteinspritzung, zum Zweck der Immunisierung, brauchte ich defibriniertes Blut; um die Bindegewebsreaktionen nach Bluteinimpfungen zu studieren, sind auch Bruchstückchen von koaguliertem Blut mit einer ziemlich großen Nadel unter die Haut eingeführt worden. Um die Tumoren abzutöten, wurden die nicht nekrotischen Teile derselben in einem Mörser, welcher in einer Kältemischung von Eis stand, fein zerrieben.

Die bestimmten Dosen des in den einzelnen Fällen gebrauchten Materials, sowie die Zahl der Tiere, sind in den verschiedenen Absätzen angegeben.

Für den größten Teil der Versuche wurde die sogenannte Frühstadienmethode gebraucht: kleine, gesunde Bruchstückchen des Impfmaterials wurden mit der Hohlnadel subkutan injiziert; nach beliebigen, regelmäßigen Zeiträumen (24 Stunden, 2 Tage usw.) wurden die Tiere getötet, das ver-

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

pflanzte Material mit dem umliegenden Fett- und Bindegewebe wurde sorgfältig ausgeschnitten und sofort in bestimmten Flüssigkeiten fixiert. Die Stücke sind nach der Einbettung in lückenlosen Serien geschnitten worden.

Zum Studium der Spontanheilungsphänomene wurden die Untersuchungen mit einem großen Material angestellt: 1) Tumoren verschiedener Stämme, die eine Neigung zur Spontanheilung zeigten; 2) Tumoren desselben Stammes aber in verschiedenen Generationen; 3) mehrere Tumoren derselben Impfserie, welche eine mehr oder weniger ausgeprägte Neigung zeigten, zu verschwinden.

Das Material wurde im Allgemeinen in der Zenkerschen Flüssigkeit oder in absolutem Alkohol fixiert. In einigen Fällen bediente ich mich auch der Flemmingschen oder Borrelschen Flüssigkeit. In den meisten Fällen wurden die Stückchen in Paraffin eingebettet und in Serien geschnitten. Wo es möglich war, habe ich Einbettungen in Celloidin gemacht; in einzelnen Fällen wurden Stückchen, die in absolutem Alkohol fixiert waren, wie bei der Nisslschen Methode, ohne Einbettung geschnitten.

Zur Färbung der Schnitte brauchte ich das polychrome Methylenblau von Unna, das Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain, das Hämatoxylin von Weigert mit Nachfärbung nach Van Gieson.

Sehr gute Resultate habe ich mit dem Azur II in flüssigem Zustande (bezogen von Grübler) erhalten; als Differenzierungsmittel nach Azur II kann ich eine Mischung von 90 Proz. Alkohol und 1 Teil von Anilinöl empfehlen; nachher werden die Präparate in 90-proz. Alkohol und absolut Alkohol sorgfältig gewaschen. Mit dieser Methode treten die verschiedenen Bindegewebselemente sehr deutlich horvor, besonders wenn die Stücke in absolutem Alkohol fixiert sind. Dieselbe Färbung gibt auch ziemlich gute Resultate nach Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit. Schnitte von in Zenkerscher Flüssigkeit fixierten Stückchen können mit großem Vorteil mit Polychrom-Methylenblau nach Unna oder mit der Giemsa-Methode gefärbt werden; in letzterem Falle sind die Präparate mit Aceton nach Schridde zu differenzieren.

Die Pappenheimsche Methylgrün-Pyronin-Färbung habe ich nur in seltenen Fällen gebraucht, da ihre Spezifität zweifelhaft ist und ziemlich gute Resultate nur zu erwarten sind, wenn die Möglichkeit vorhanden ist, die Färbung an nicht aufgeklebten Schnitten anzuwenden; das war in den meisten Fällen nicht durchführbar, da in den oben genannten Versuchen vollständige und ununterbrochene Serien von ganz kleinen Stückchen nötig waren.

Ich will noch weiter hinzufügen, daß ich das in der Sammlung des Laboratoriums aufgehobene Material von Präparaten und Tumorblöcken mit großem Vorteil gebraucht habe.

Das lockere Bindegewebe der Maus und die Nomenklatur der Bindegewebselemente.

Untersuchungen über die Beschaffenheit des lockeren Bindegewebes habe ich auf das subkutane

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und intermuskuläre Gewebe beschränkt, da in den meisten Fällen die Tumoren subkutan inokuliert sind, und ferner, weil es mir leichter schien, einige orientierende Bilder über diese so schwierige Frage auf diese Weise zu gewinnen.

Ich habe nicht die Absicht, hier auf die außerordentlich reiche Literatur dieses Kapitels ausführlich einzugehen; das würde mich erstens zu weit von meinem eigentlichen Ziel abführen, und zweitens ist dieselbe fast vollständig in den Werken von Marchand und Maximow zusammengestellt, auf welch letztere ich etwas näher eingehen werde; besonders weil die von Maximow gebrauchten Benennungen auch von späteren Autoren angenommen worden sind.

Was die Plasmazellen betrifft, ist eine sehr schöne Zusammenfassung in der Arbeit von Veratti[1]) zu finden; über dasselbe Thema hat jüngst auch Greggio[2]) eine vollständige, chronologisch geordnete Bibliographie zusammengestellt.

Maximow[3]) hat 1902 im Bindegewebe des Kaninchens folgende Elemente unterschieden: 1) Fibroblasten, 2) Wanderzellen, 3) Clasmatocyten, 4) Fettzellen, 5) clasmatocyt-ähnliche Adventitialzellen.

Die Fibroblasten sind die gewöhnlichen Bindegewebszellen.

Unter Wanderzellen sind kleine Elemente, die ein Analogon der Lymphocyten des Blutes bilden, zu verstehen, welche vom Blut während der Körperentwicklung in Bindegewebe übergegangen sind.

In der Kategorie der Clasmatocyten faßte Maximow die Elemente, die unter dieser Benennung zuerst von Ranvier[4]) beschrieben sind und die hauptsächlich durch ein dichteres Kerngerüst als in Bindegewebszellen und durch grobe, ziemlich stark lichtbrechende, im Zelleib liegende Granula charakterisiert sind. Maximow glaubt, daß die Meinung Ranviers zu Recht besteht, daß sich die Clasmatocyten aus den Wanderzellen entwickeln und daß andererseits aus den Clasmatocyten gewöhnliche Bindegewebszellen sich entwickeln können.

Die Clasmatocyten wurden, wie bekannt, zuerst von Ranvier im Bindegewebe von Amphibien, später auch bei Säugern beschrieben. Er

---

1) E. Veratti, Ricerche sull' origine delle „Plasmazellen". Pavia (Bizzoni) 1905.

2) E. Greggio, Significato e provenienza delle cellule ipercromocitoplasmatiche, etc. Annali Ist. Pat. Chir. Padova, Vol. 1, 1909.

3) A. Maximow, Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Zieglers Beiträge, Supplementheft 5, Jena 1902.

4) Ranvier, Les Clasmatocytes. Arch. d'Anat. micr., T. 3, 1899/1900, p. 22, Pl. III.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

behauptet, daß die von Ehrlich[1]) beschriebenen Mastzellen nur für eine Varietät seiner Clasmatocyten zu halten seien. Jolly[2]) hat nachher vergleichende Studien über das Bindegewebe der Amphibien und der Säuger gemacht und ist zu dem Schlusse gekommen, daß die Clasmatocyten der Amphibien die Reaktion der Mastzellen zeigen und daß es hier nicht möglich ist, die zwei Gruppen von Elementen voneinander zu trennen. Die Clasmatocyten der Säuger dagegen geben nicht die Reaktion der Mastzellen; hier ist also die Trennung beizubehalten.

Schreiber[3]) glaubt im Gegenteil an der Identität der Clasmatocyten und der Mastzellen festhalten zu müssen.

Kurz, man kann heutzutage als genügend festgestellt halten, daß in der Kategorie der Ranvier-Clasmatocyten zwei Gruppen von Elementen abzutrennen sind: 1. die Clasmatocyten der Amphibien, die mit den Ehrlichschen Mastzellen identisch sind, 2. die Clasmatocyten der Säuger.

In die Kategorie der clasmatocytenähnlichen Adventitialzellen reihte Maximow die Elemente ein, welche von Marchand einfacherweise als Adventitialzellen bezeichnet waren. Nach Maximow „stellt ein Teil dieser Zellen einfache Bindegewebszellen vor, die nur klein und atypisch geformt sind und dicht beisammen liegen, der andere besteht aber zweifellos meistens aus auch körnchenführenden Clatmatocyten". Es ist gut, sich daran zu erinnern, daß die Kategorie der Marchandschen Adventitialzellen ziemlich größer aufzufassen wäre und Elemente enthält, welche weder durch den Charakter des Nucleus noch des Protoplasma von den oben besprochenen Wanderzellen zu unterscheiden sind. Die Existenz dieser Elemente an der Peripherie der Gefäße war schon von Cajal[4]) beobachtet und nach dem Erscheinen von Marchands Werk „Der Prozeß der Wundheilung" von Foà[5]) bestätigt worden. Maximow sagt selbst in einer später erschienenen Arbeit „Ueber die Zellformen des lockeren Bindegewebes" an verschiedenen Stellen, daß in der Nähe der Gefäße kleine amöboide Wanderzellen zu finden sind. Die Adventitialzellen spielen nach Marchand eine sehr

---

1) Ehrlich hatte anfangs die Mastzellen durch die Dahliaviolett-Reaktion charakterisiert, nachher aber ist der Name Mastzellen für diejenigen Elemente geblieben, die nach der Behandlung mit Polychrom-Methylenblau intensiv rot oder violett färbbare Granula zeigen. Ich werde das Wort Mastzelle immer in diesem letzten Sinne brauchen.

2) Jolly, Clasmatocytes et Mastzellen. Compt. rend. Soc. Biol., 1900. — Cellules plasmatiques, cellules de Ehrlich et clasmatocytes. Compt. rend. Soc. des Anat., II. Session, Lyon 1901, p. 78.

3) Schreiber, Ein bequemes Objekt zum Studium der Mastzellen (Clasmatocyten). Münch. med. Wochenschr., Bd. 50, 1902. — Die Bedeutung der sog. Clasmatocyten Ranviers. Centralbl. f. allg. Path., Bd. 12, 1901.

4) Ramon y Cajal, Manual de Anatomia patologica general. Barcelona 1890, p. 184—199.

5) Foà, Sulla produzione cellulare nell'inflammazione ed in altri processi analoghi con particolare riguardo alla produzione delle plasmacellule. Memorie R. Acc. delle Scienze di Torino, Serie II, T. 52, 1902.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

wichtige Rolle bei allen entzündlichen Prozessen und Neubildungen von Bindegewebe. Schon beim ersten Auftreten der letzteren treten in den Adventitialzellen proliferative Erscheinungen hervor, infolgedessen dieselben in einer langen Serie von verschiedenen Elementen sich ändern können, und zwar: 1) in rundlichen, mehr oder weniger protoplasmareichen Zellen, die durch amöboide Bewegung und phagocytäre Fähigkeit charakterisiert sind, 2) in den lymphocytähnlichen Elementen, die den Hauptteil der sog. kleinzelligen Infiltrationen bilden, 3) in Mastzellen, 4) in Plasmazellen*).

*) Der Name „Plasmazelle" wurde zuerst im Jahre 1875 von Waldeyer[1]) als eine allgemeine Benennung für verschiedene, protoplasmareiche bindegewebige oder als solche damals gehaltene Elemente gebraucht. Im Jahre 1890 beobachtete Cajal[2]) bei syphilitischen Kondylomen die Anwesenheit von Zellen, die er syphilitische Zellen nannte, die aber nichts anderes als Plasmazellen waren; er glaubte zwar damals, daß es um etwas der syphilitischen Erkrankung Eigentümliches sich handelte, was er in der II. Auflage seines Handbuches der pathologischen Anatomie, ferner in einer anderen Arbeit[2]) als nicht wahr erkannte. Inzwischen lenkte Unna[3]), ohne von der Cajalschen Arbeit zu wissen, die Aufmerksamkeit auf eine besondere Kategorie von protoplasmareichen und amorphkörnigen Elementen, welche, seiner Meinung nach, den Waldeyerschen Plasmazellen entsprachen. Waldeyer[4]) aber äußerte sich im Jahre 1895 in dem Sinne, daß die von ihm als Plasmazellen bezeichneten Elemente von den Unnaschen Plasmazellen verschieden waren, und daß die Benennung „Plasmazellen" im von ihm früher gegebenen Sinne nicht mehr zu brauchen sei, Unna freilassend, den Namen „Plasmazellen" für die bei Lupus entdeckten Elemente in Anwendung zu bringen. Die Bezeichnung „Plasmazellen" wurde so zum allgemeinen Gebrauch. Nach der ersten Arbeit Unnas hatte sich inzwischen eine ziemlich große Literatur über die Plasmazellen angesammelt, welche in den folgenden Jahren noch größer geworden ist; leider sind sich auch heutzutage die Autoren über keine der wichtigen Fragen, welche die Plasmazellen betreffen, einig. Die ersten Meinungsverschiedenheiten fangen gleich mit der Definition der „Plasmazellen" an. Während Unna dieselbe als in extremer Weise mit Granoplasma erfüllte Bindegewebszellen definiert, und diese Meinung auch in anderen Arbeiten ausgesprochen hat[5]), wurden die Plasmazellen von Marschalkó[6]) durch

1) Waldeyer, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 11, 1875.

2) Cajal, Manual de Anatomia patologica general. 1. Ed., Barcelona 1890, p. 184. — Rev. trim. micr., T. 1, 1896.

3) Unna, Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. 12, 1891, No. 7.

4) Waldeyer, Sitzungsber. d. Pr. Ak. d. Wiss. Berlin, 1895, p. 75.

5) Unna, Berl. klin. Wochenschr., 1892, No. 49; ibid. 1893, No. 9. — Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. 20, 1895; ibid. 1896. — Histologischer Atlas zur Path. der Cutis, 1903, Heft 6—7. — Artikel „Plasmazellen" der Encyklopädie der mikr. Techn., 1903.

6) v. Marschalkó, Arch. f. Dermat. u. Syph., 1895 u. 1900. — Centralbl. allg. Path., 1899, p. 851.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für diese durch Form und Funktion verschiedenen Elemente, die aber alle aus der Proliferation der Adventitialzellen entstehen können, hat Marchand die Benennung leukocytoide Zellen vorgeschlagen.

---

eine Anzahl von morphologischen, sehr oft wiedergegebenen Eigenschaften charakterisiert. Pappenheim[1]) hat in mehreren Arbeiten die Idee ausgesprochen, daß die Bezeichnung Plasmazellen allen Elementen der sog. kleinzelligen Infiltration — ausgenommen die polymorphkernigen Leukocyten — zu geben ist. Andere Autoren, wie z. B. Greggio, legen den Nachdruck teils auf die färberischen Eigenschaften des Unnaschen Granoplasma, teils auf die morphologischen Eigentümlichkeiten in Marschalkós Sinne. Nissl[2]) hat hervorgehoben, daß auch „die typischen Plasmazellen Marschalkós kein so scharf umschriebener Zelltypus ist, daß er sich unter allen Umständen sicher von den lymphocytenartigen Elementen und den Bindegewebszellen mit basophilem Zelleib abgrenzen läßt". — Die Schwierigkeit, eine Definition von den Plasmazellen zu geben, wurde von Unna selbst vergrößert, indem er neben den großen noch kleine Plasmazellen unterscheiden wollte; letztere teilte er in „Plasmatochterzellen" und „atrophische Plasmazellen"; die Plasmatochterzellen entstehen durch Teilung aus den großen; die atrophischen Plasmazellen sind für ein Degenerationsprodukt der großen Plasmazellen zu halten. Bei einer so großen Definitionsunbestimmtheit wird man leicht verstehen, warum alle die anderen Fragen, welche die Plasmazellen betreffen, fast ungelöst geblieben sind. Man kann z. B. auch heute das wichtige Problem, ob Plasmazellen in den normalen Organen existieren, als noch nicht sicher entschieden betrachten. Unna hatte die Plasmazellen nur in der Milz der weißen Maus gefunden; Hodara[3]) und Bosellini[4]) verneinen ihre Anwesenheit in den blutbildenden Organen; Parodi[5]) im Knochenmark, Rubens-Duval[6]) und Greggio in der Haut (Subkutangewebe?). Nach Jadassohn[7]) dagegen kann man Plasmazellen in den normalen blutbildenden Organen beobachten; Marschalkó hat „in der ganz normalen Milz als auch in den Lymphdrüsen der Menschen und Kaninchen Zellen gefunden, die sich von den Plasmazellen morphologisch gar nicht, tinktoriell nur insofern unterscheiden, als sich ihr Protoplasma mit Mbl. um einen Gedanken blässer färbt".

---

1) Pappenheim, Virch. Arch., Bd. 164, 1901; Bd. 169, 1902. — Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. 32 u. 33, 1901; Bd. 34, 1902. — Verh. d. Deutsch. path. Ges., Bd. 4, 1902. — Folia Haematologica, Suppl.-Heft, 1907.

2) Nissl, Hist. u. histopath. Arbeiten über Großhirnrinde, Bd. 1, 1904.

3) Hodara, Ann. de Dermat. et de Syph., T. 6, 1895, No. 10.

4) Bosellini, Giornale ital. delle mal. veneree e della pelle, Fasc. 2, 3, 1902.

5) Parodi, Arch. per le Science med., Vol. 28, 1904.

6) Rubens-Duval, Histologie des inflammations cutanées, Paris (G. Jacques) 1908.

7) Jadassohn, Arch. f. Derm. u. Syph., Ergänzungsheft, 1892. — Berl. klin. Wochenschr., 1893.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nach Maximow spielen im Gegenteil auch Zellen von hämatogenem Ursprung hier eine sehr wichtige Rolle. Schon in den ersten Stunden des entzündlichen Prozesses runden sich nach dem Verf. die Clasmatocyten

---

Nach dem Verf. aber finden sich in der ganz normalen Milz sowohl der weißen Mäuse wie der weißen Ratten Zellen, die von den Plasmazellen sich weder morphologisch noch tinktoriell unterscheiden lassen. Nach Jolly[1]), Schwarz[2]), Maximow, Beattie[3]), Weidenreich existieren Plasmazellen im Netz von verschiedenen Säugern; nach Dominici[4]), Schlesinger[5]) und Rubens-Duval in der Darmschleimhaut; nach Schottländer[6]) im Eierstock der Kaninchen; nach Dantchakoff[7]) in der Glandula Submaxillaris der Kaninchen; nach Greggio, obwohl spärlich, in den Lymphdrüsen von erwachsenen Tieren. Noch größer sind die Meinungsverschiedenheiten über die Herkunft der Plasmazellen. Für Unna, Leo Ehrlich[8]) und Bosellini sind sie im großen und ganzen einseitig hypertrophische Bindegewebszellen; Cajál führt sie auf gewisse bindegewebige Keimkörper, welche in den Lymphspalten angehäuft sind, zurück. Marchand, Buck[9]), Veratti, Amato[10]), Savagnone[11]), Greggio lassen die Plasmazellen aus den Adventialzellen, Buck aber auch aus den Endothelzellen hervorgehen; Foà[12]), Porcile[13]), Morandi[14]), Parodi, Vanzetti e Parodi[15]), Schridde[16]) leiten die Plasmazellen von den histiogenen Lymphocyten (Ribbert) ab. Marschalkó, Schottländer, Justi[17]), Enderlen und Justi[18]), Krompecher[19]), Dominici,

---

1) Jolly, C. R. Soc. de Biol., 1900.
2) Schwarz, Virch. Arch., Bd. 179, 1905.
3) Beattie, Journal of Pathol. and Bact., June 1902.
4) Dominici, C. R. de l'Ass. des Anat., Lyon 1901.
5) Schlesinger, Virch. Arch., Bd. 169, 1902.
6) Schottländer, Ueber Eierstocktuberkulose, Jena (Fischer) 1897.
7) Dantchakoff, I. Congrès Féderatif des Anat., Génève 1905.
8) Leo Ehrlich, Virch. Arch., Bd. 175, 1904.
9) Buck, Journ. de Névrologie, Année 10, 1905, No. 6.
10) Amato, Lo Sperimentale, 1908, Fasc. 4.
11) Savagnone, Pathologica, 1909, No. 5.
12) Foà, Memorie R. Acc. delle Science Torino, Ser. 2, Vol. 52, 1902. — Giorn. R. Acc. di Med. Torino, 1903. — Arch. per le Scienze med., Vol. 28, 1904, No. 4.
13) Porcile, Zieglers Beiträge, Bd. 36, 1904.
14) Morandi, Arch. per le Scienze med., Vol. 28, 1904, No. 1.
15) Vanzetti e Parodi, Lo Sperimentale, 1905, Fasc. 1. — Giorn. R. Acc. di Med. Torino, 1905, No. 7—8.
16) Schridde, Anat. Hefte, 1905, Heft 85, 86. — Centralbl. f. allg. Path., 1905, No. 11. — Arch. f. Derm. u. Syph., Bd. 13, 1905.
17) Justi, Virchows Arch., Bd. 150, 1897.
18) Enderlen und Justi, Deutsche Zeitschr. f. Chir., Bd. 62, 1902.
19) Krompecher, Zieglers Beiträge, Bd. 24, 1898.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und die clasmatocytähnlichen Adventitialzellen ab. Sie werden wieder mobil und verwandeln sich in große amöboide Zellen. Zu derselben Zeit kommt eine starke Auswanderung von Blutelementen vor und es tritt in

---

Councilman[1]), Mallory[2]), Schlesinger, Else von der Leyen[3]), K. Ziegler[4]), Maximow, Nissl, Klippel et Pierre Weil[5]), lassen die Plasmazellen aus den Lymphocyten des Blutstromes sich entwickeln. Nach Joannovics[6]) können die Plasmazellen teils aus Lymphocyten und großen einkernigen Leukocyten, teils aber auch aus Bindegewebszellen sich entwickeln. Almquist[7]) unterscheidet scharf die Unnaschen von den Marschalkóschen Plasmazellen und hält es für wahrscheinlich, daß die ersteren aus Bindegewebszellen, die zweiten aus Lymphocyten abstammen.

Ich möchte hier noch hervorheben, daß die meisten Autoren fast immer die Plasmazellen in lokalen, spontanen oder experimentell hervorgerufenen Entzündungsprozessen untersucht haben; nur hier und dort in der umfangreichen Literatur findet man spärliche Beobachtungen, die, wenn genauer studiert und weiter verfolgt, von großem Wert, nicht nur für die Plasmazellenfrage, sondern auch für allgemeine biologische Probleme sein könnten. Marschalkó z. B. hat charakteristische Plasmazellen in der Milz von Kaninchen 24 Stunden nach einer subkutanen Einspritzung von $1^1/_2$ ccm Tuberkulin beobachtet. Foà hat Plasmazellen in der Milz und im Knochenmark eines Falles von plasmacellulärer Pseudoleukämie gefunden. Nach Else von der Leyen und Nissl kann man, obwohl selten, Plasmazellen in den Blutgefäßen finden. Nach Cerletti[8]) kommen im kreisenden Blut von Kaninchen, nach Einspritzung von verschiedenen Sera, Plasmazellen vor.

In dieser Note habe ich noch zu erwähnen, daß mit der sogenannten Theorie der hämatogenen Herkunft der Plasmazelle diese schon schwierige Frage durch Verquickung mit einem der wichtigen Probleme der allgemeinen Pathologie noch mehr kompliziert wird; ich meine mit der Frage der Beweglichkeit resp. der Diapedese der Lymphocyten. Daran, daß die polymorphkernigen Leukocyten und wahrscheinlich auch die großen mononukleären Leukocyten imstande sind, sich aktiv zu bewegen, und aus dem strömenden Blut auszuwandern, wird man heutzutage nicht mehr zweifeln; daß während des entzündlichen Prozesses von den Gewebselementen selbst Zellen hervorkommen, die amöboide Bewegung und phagocytische Eigenschaften be-

---

1) Councilman, Journ. of exp. Med., Vol. 3, 1898, No. 4 u. 5.

2) Mallory, ibidem, 1898, No. 6.

3) Else von der Leyen, Ueber Plasmazellen in pathologisch veränderten Geweben. Inaug.-Diss. Halle, 1901.

4) K. Ziegler, Zieglers Beiträge, Bd. 36, 1904.

5) Klippel et Pierre Weil, Arch. Méd. exp., 1909, No. 2.

6) Joannovics, Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. 20, 1899, No. 1.

7) Almquist, Arch. f. Derm. u. Syph., Bd. 58, 1901. — Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. 34, 1902, p. 281 u. 612.

8) Cerletti, Atti Acc. dei Lincei, Roma 1908.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

das Gewebe eine große Menge von Lymphocyten hinein — kleine Lymphocyten, mononukleäre Leukocyten — die mit den präexistierenden Wanderzellen und verwandelten Clasmatocyten, ferner clasmatocytähnlichen Ad-

---

sitzen, ferner morphologisch von den großen und kleinen Lymphocyten des Blutes nicht zu unterscheiden sind, kann nach den Untersuchungen von E. Ziegler[1]), Nikiforoff[2]), Bardenheuer[3]), Klemensiewicz[4]), Büngner[5]), Hammerl[6]), Marchand[7]), Maximow u. a., als sicher bewiesen gelten; ob auch die Lymphocyten des Blutes (kleine Lymphocyten, kleine mononukleare Leukocyten) bewegungsfähig sind und infolgedessen aus den Gefäßen emigrieren können, ist auch heute noch nicht sicher entschieden. Alle Autoren, welche den hämatogenen Ursprung der Plasmazellen aufrechterhalten, nehmen als bewiesen die Beweglichkeit und die Diapedese der Lymphocyten an; mit diesen konnte man noch rechten. Schulze[8]), Rieder[9]), Arnold[10]), Baumgarten[11]), Wolf und Corday[12]), Pröscher[13]), Hirschfeld[14]), Rosin und Bibergeil[15]) und endlich Fischer[16]), der neulich besondere Untersuchungen über die Herkunft der Lymphocyten in den ersten Stadien der Entzündung angestellt hat. Viele andere Autoren, wie z. B. Marchand, Pappenheim, Wlasson und Seep[17]), Levaditi[18]) nehmen gerade das Gegenteil an und bemerken, daß bis jetzt niemand die aktive Bewegung und Auswanderung der Lymphocyten sicher bewiesen hat. Die besondere, in dieser Frage von Ribbert[19]) eingenommene Stellung ist bekannt. Schließ-

---

1) E. Ziegler, X. med. Kongreß zu Berlin, 1890. — Lehrb. d. allg. Pathol. u. path. Anat., 1901, 10. Aufl.

2) Nikiforoff, Zieglers Beiträge, Bd. 8, 1889.

3) F. Bardenheuer, Zieglers Beiträge, Bd. 10, 1891.

4) Klemensiewicz, Festschr. f. A. Rollet, Jena 1893, zit. v. Veratti.

5) Büngner, Zieglers Beiträge, Bd. 19, 1896.

6) Hammerl, ibidem.

7) Marchand, Sitzungsber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw., Nov. 1895 u. 1897. — Verh. d. deutsch. path. Ges., Bd. 1, 1898.

8) Schulze, Arch. f. mikr. Anat., 1865.

9) Rieder, Beiträge zur Kenntnis der Leukocytose, Leipzig 1892.

10) Arnold, Virchows Archiv, Bd. 132, 1893.

11) Baumgarten, Berl. klin. Wochenschr., 1900, p. 857.

12) Wolf und Corday, ibidem, 1904, No. 49.

13) Pröscher, Virchows Archiv, Bd. 179, Heft 1.

14) Hirschfeld, Berl. klin. Wochenschr., 1901, No. 40.

15) Rosin und Bibergeil, Deutsche med. Wochenschr., 1902, No. 3—4.

16) Fischer, Zieglers Beiträge, Bd. 45, 1909, Heft 3.

17) Wlassow und Seep, Virchows Archiv, Bd. 176, 1904.

18) Levaditi, Handbuch d. Technik u. Methodik d. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, p. 279.

19) Ribbert, Virchows Arch., Bd. 150, 1897.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ventitialzellen sich mischen. Allen diesen Elementen, die durch mehr oder weniger ausgeprägte rundliche Formen, Amöboidbewegung und phagocytäre Fähigkeit charakterisiert sind, hat Maximow den Namen Polyblasten gegeben. Da aber nach Maximow die Unnaschen Plasmazellen „nichts anderes als aus den Blutgefäßen ausgewanderte und speziell metamorphosierte einkernige Leukocyten, Lymphocyten sowohl als auch eigentliche mononukleäre Leukocyten sind", sind nach Maximow also die Plasmazellen zu den Polyblasten zu zählen. Auch die sogenannten Makrophagen sind nach Maximow ein Produkt der Evolution der Polyblasten, i. e. sind auch in diese Kategorie einzureihen.

Diese Benennung — „Polyblasten" — (obwohl nach der Idee des Verf. richtig) ist, statt Ordnung und Klarheit zu bringen, die Ursache von Verwirrung gewesen; mit derselben kann eine Menge von verschiedenen Elementen verstanden werden.

In mehreren später erschienenen Arbeiten ist das Wort Polyblasten manchmal in einem engeren, manchmal in einem weiteren Sinne gebraucht, so daß es in jedem Fall für den Leser schwer ist, zu verstehen, von welchen Elementen die verschiedenen Autoren sprechen wollten. Maximow selbst hat die Grenze dieser Kategorie von Zellen später besser bestimmt, indem er von derselben die Plasmazellen ausgenommen hat.

Ich möchte hervorheben, daß die Maximowschen Polyblasten den Marchandschen leukocytoiden Zellen ent-

---

lich gibt es Autoren (Veratti, O. Fischer), welche die Anschauung nicht zurückzuweisen vermögen, daß die Lymphocyten von den Lymphbahnen selbst in die Entzündungsherde einwandern können.

Mit Rücksicht auf die übermäßige Verwicklung der in Betracht genommenen Aufgaben und der sehr großen Meinungsverschiedenheiten der Autoren schien als vorteilhaft, in der vorliegenden Arbeit die Maximowsche Definition der Plasmazellen anzunehmen. Um zu bestimmen, ob normal oder subkutan im Fettgewebe der Maus Plasmazellen sich finden oder nicht, habe ich besondere Untersuchungen angestellt. Die schwierige Frage der Plasmazellenherkunft wird als ungelöst betrachtet; ob die Lymphocyten bewegungsfähig und imstande sind, aus den Blutgefäßen resp. aus den Lymphbahnen auszuwandern, kann diese zelluläre Analyse der Krebsimmunitätsreaktionen nicht entscheiden; man wird trotzdem durch die verschiedenen Experimente verstehen, wie und warum es, meiner Meinung nach, im Bereich der Möglichkeit liegt.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

sprechen, jedoch mit dem Unterschied, daß die ersten von histiogenem und hämatogenem, die zweiten nur von histiogenem Ursprung sind.

In einer folgenden Arbeit hat Maximow[1]) über das lockere Bindegewebe der Ratte berichtet, bei dem er folgende Elemente beschreibt: 1) Fibroblasten, 2) Wanderzellen, 3) Clasmatocyten, 4) Fettzellen, 5) Mastzellen, 6) polymorphkernige Leukocyten.

Die Fibroblasten, die Wanderzellen und die Fettzellen haben denselben Charakter, wie die gleichgenannten vom Kaninchen.

Die Clasmatocyten sind auch nicht im wesentlichen von denen des Kaninchens verschieden; Maximow glaubte aber damals, daß bei der Ratte im Protoplasma dieser Zellen besondere färbbare Körnchen fehlten.

Die Mastzellen sind durch die Anwesenheit von spezifischen, mit basischen Anilinfarben metachromatisch färbbaren Körnchen charakterisiert.

Die polymorphkernigen Leukocyten sind schon normalerweise bei der Ratte, und, wie wir sehen werden, auch bei der Maus im Bindegewebe zu finden; sie sind mit den gleichgenannten des Blutes identisch, scheinen nur etwas größer zu sein.

In den entzündlichen Prozessen spielen nach Maximow die Polyblasten auch bei der Ratte eine sehr wichtige Rolle.

Der Verf. aber sagt, daß er niemals in der Narbenbildung bei diesem Tier wirkliche Plasmazellen beobachtet hat.

Vor kurzem hat Maximow[2]) eine besondere Arbeit über die Zellformen des lockeren Bindegewebes im normalen Zustand veröffentlicht. In dieser Arbeit kommt Maximow wieder auf die Nomenklatur der Bindegewebselemente zurück und faßt kurz die Beteiligung der verschiedenen Zellen an den entzündlichen Neubildungsprozessen zusammen. Schon normalerweise sind nach Maximow im Bindegewebe von allen Säugern folgende Elemente zu unterscheiden: 1) Fibroblasten, 2) Mastzellen, 3) ruhende Wanderzellen, 4) kleine amöboide Wanderzellen, 5) Plasmazellen, 6) eosinophile Zellen, 7) Fettzellen.

Die Fibroblasten sind wieder die gewöhnlichen Bindegewebszellen. Bei der Entzündung fangen sie schon in sehr frühen Stadien zu wuchern an, aber als verhältnismäßig hoch spezifisch differenzierte Elemente können sie nur ihresgleichen produzieren und dabei bewahren sie fortwährend mehr oder weniger vollkommen ihren morphologischen Habitus.

Die Mastzellen sind die durch spezifisch metachromatisch färbbare Körner charakterisierten Elemente. Bei dem entzündlichen Prozeß werden die Mastzellen gleich am Anfang durch die Polyblasten zerstört und zerfressen, wobei die spezifischen Granula auf dem Wege der Phagocytose in

---

1) Maximow, Bindegewebsneubildung und Veränderung der Mast- und Fettzellen bei der weißen Ratte. Zieglers Beitr., Bd. 35, 1904.

2) Maximow, Ueber die Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 67, 1906.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

das Protoplasma der Polyblasten gelangen. Ranviers Clasmatocyten der Amphibien sind für Mastzellen zu halten.

Die ruhenden Wanderzellen entsprechen den Ranvierschen Clasmatocyten der Säuger und sind nicht mit den echten Mastzellen zu verwechseln. Um Verwirrung zu vermeiden, glaubt Maximow, es sei vorteilhaft, den Namen Clasmatocyt nicht mehr zu brauchen, und die Bezeichnung ruhende Wanderzellen, als passende Benennung für die obengenannten Clasmatocyten der Säuger vorzuschlagen. Es ist hier zu betonen, daß nach Maximow die „Cellules Rhagiocrines" von Renaut[1]) nichts anderes als ruhende Wanderzellen sind. Bei der Entzündung runden sich die ruhenden Wanderzellen ab, werden wieder mobil und wandeln sich in große, amöboide phagocytäre Zellen, die Polyblasten, um. Ihre Zahl im Gewebe ist beschränkt; Vermehrung kommt zwar vor, aber sie können doch nicht in kürzester Zeit die nötige Quantität von Zellen erzeugen und deswegen emigrieren sie sofort bei Beginn der Entzündung aus den Gefäßen zahlreiche junge, indifferente Zellen, die Lymphocyten. Im Gewebe vergrößern sie sich rasch, schließen sich den ehemaligen ruhenden Wanderzellen als vollkommen gleichwertige Elemente an, und verwandeln sich also ebenfalls in Polyblasten. Die Kategorie der Polyblasten ist in dieser Weise viel besser begrenzt.

Die kleinen amöboiden Wanderzellen entsprechen in Form und Größe des Kerns und des Protoplasmas den Lymphocyten des Blutes. Normalerweise sind sie in der Umgebung der Gefäße und zwischen den Fettzellen vorhanden.

Die Plasmazellen „zeichnen sich aus durch ihre rundliche Form, durch das scharf konturierte, mit basischen Anilinfarben dunkel färbbare Protoplasma ohne distinkte Körnelung, durch einen zentralen hellen, die Zentrosomen enthaltenden Hof und den exzentrischen kleinen runden dunklen Kern". Bei der Entzündung und im Narbengewebe haben die echten Plasmazellen besondere unbekannte Funktionen zu verrichten und sind, vielleicht gerade in der Folge ihrer hohen speziellen Differenzierung, unfähig, sich in fixe Elemente zu verwandeln. Sie können sich zwar mitotisch teilen, verfallen aber schließlich der Atrophie.

Die Maximowschen eosinophilen Zellen entsprechen den gewöhnlichen polymorphkernigen Leukocyten, den Pseudoeosinophilen, sowie den echten Eosinophilen.

Welche von all diesen Benennungen (leukocytoide Zellen, Makrophagen, Clasmatocyten, „Cellules Rhagiocrines", ruhende Wanderzellen, kleine amöboide Wanderzellen, Polyblasten usw.) sind nun für unseren Zweck — die größte mögliche Klarheit in der Beschreibung der Untersuchungen zu erreichen — die am besten geeigneten?

Renaut, Compt. rend. Soc. de Biol., T. 56, 1904; T. 57, 1905.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was die Fibroblasten, die Mastzellen und die Fettzellen betrifft, sind sie die besser charakterisierten und wohlbekannten Elemente und braucht man für sie keine neuen Wörter anzuwenden. Die Benennung „ruhende Wanderzellen" statt „Clasmatocyten" scheint mir sehr annehmbar, indem hierbei eine bestimmte Gruppe von Elementen genauer charakterisiert ist. Es wäre andererseits in einzelnen Fällen nötig, „Clasmatocyten der Säuger" zu sagen. Auch die Benennung kleine amöboide Wanderzellen wäre in Gebrauch zu bringen; da aber schon nach Maximow diese Elemente den Lymphocyten entsprechen, scheint es mir zweckmäßig — wie neulich Weidenreich[1]) — die alte Benennung Lymphocyten beizubehalten. Ich fasse vorläufig unter diesem Namen alle die einkernigen Lymphocyten (kleine Lymphocyten, große und kleine mononukleäre Leukocyten) zusammen.

Für die Maximowschen eosinophilen Zellen ziehe ich vor, den alten Namen polymorphkernige Leukocyten zu brauchen; das Wort „eosinophilen" möchte ich gerne für die echten eosinophilen körnchentragenden Elemente beibehalten.

Was die Plasmazellen betrifft, habe ich zu der oben erwähnten Maximowschen Definition nichts hinzuzufügen. Ich betone nur, daß ich normalerweise im Subkutanbindegewebe von jungen und alten Mäusen Elemente, die als Plasmazellen gedeutet werden könnten, nie beobachtet habe. Ich habe dieselben in der Nähe der Gefäße und der Nerven, zwischen den Fettzellen, in den Umgebungen der Mamma, zwischen den Muskelfasern erfolglos gesucht.

Die Benennung „Polyblasten" möchte ich nicht gern gebrauchen; obwohl wir aus der ganzen Untersuchungsreihe sehen werden, daß bei Neubildung von Bindegewebe die Auswanderung von Blutelementen sehr schwer zu leugnen ist, und daß es logisch und richtig scheint, die aus dem Blut in den ersten Stunden des pathologischen Prozesses emigrierten

1) Weidenreich, Zur Morphologie und morphologischen Stellung der ungranulierten Leukocyten — Lymphocyten — des Blutes und der Lymphe. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 7, 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lymphocyten, und die wieder mobil gewordenen ruhenden Wanderzellen in eine einzige Gruppe von Elementen zu fassen, ist trotzdem, meiner Meinung nach, für diese Gruppe von Zellen das Wort Polyblasten nicht mehr in Anwendung zu bringen. Tatsächlich ist es, wie schon erwähnt, von mehreren Autoren bald in einem breiteren, bald in einem engeren Sinne gebraucht worden. Ich werde also die oben erwähnten, teils von histiogenem, teils von hämatogenem Ursprung stammenden Elemente ganz einfach als Wanderzellen bezeichnen. Dieses Wort wurde schon in demselben Sinne von Bashford und Murray in ihren Untersuchungen über „The source of the constituent elements of new growths" benutzt.

Ich will hier noch hinzufügen, daß ich in diese Gruppe der Wanderzellen die sogenannten Makrophagen nicht einschließe. Auf Grund von eigenen Versuchen bin ich geneigt zu glauben, daß diese Zellen nur von histiogener Herkunft sind. Meine Untersuchungen sind aber darüber noch nicht vollständig, so daß ich vorläufig diese Frage unentschieden lassen will. Unter dem Namen „Makrophagen" verstehe ich natürlich nicht alle die verschiedenen Zellen, die unter wechselnden Bedingungen phagocytäre Eigenschaften annehmen können, sondern eine bestimmte Gruppe von Elementen, welche durch verhältnismäßig kleine, im allgemeinen mehr oder weniger rundliche Kerne, feinnetziges Protoplasma charakterisiert sind. Diese Elemente sind schon mehrmals von verschiedenen Autoren abgebildet, vor kurzem auch von Bashford und Murray auf p. 44—59 des II. „Report of the Imperial Cancer Research Fund"; die Autoren haben auch die Benennung „Makrophagen" in dem oben gesagten, beschränkten Sinne gebraucht.

Durch das schon Gesagte kann ich meine eigenen Beobachtungen über das lockere Bindegewebe der normalen erwachsenen Maus sehr kurz zusammenfassen.

Die bestcharakterisierten Formen sind die gewöhnlichen Bindegewebszellen, die Fibroblasten (Fig. 1); ihr Kern, groß und platt, ist im allgemeinen oval, selten rundlich, mit feinen, ganz glatten Konturen; im Kerninnern sind feine, regel-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mäßig verteilte staubförmige Chromatinpartikelchen, und einige ziemlich deutliche Nukleolen. Schnitte von alkoholfixierten und nicht eingebetteten Stücken lassen die mannigfaltigen Ausläufer und die Protoplasmagrenze besser erkennen; die Ränder des Zelleibes bleiben aber gewöhnlich derart blaß, daß ihre genauen Konturen nicht zu definieren sind. Der dünne, glatte Zelleib scheint, besonders in der Umgebung des Kernes, eine feinnetzige Struktur zu besitzen. In Azurpräparaten sieht man noch im Protoplasma eine sehr feine blasse Körnelung. Bei Profilansicht erscheinen die Fibroblasten als spindelförmige Zellen und können leicht mit Endothelzellen verwechselt werden (Fig. 2). In der Umgebung der Gefäße und der Nerven, beim Uebergang des subkutanen Bindegewebes in das Cutisgewebe verlieren sehr oft die Fibroblasten ihr typisches Aussehen, und können unregelmäßige eckige, kleinere Formen annehmen.

Die ruhenden Wanderzellen (Clasmatocyten der Säuger) sind, meiner Erfahrung nach, bei der Maus nicht so leicht wie beim Kaninchen zu erkennen; selten habe ich Elemente mit einer deutlichen, in Methylenblaupräparaten grünlichblau, in Azurpräparaten tiefblau färbbaren Protoplasmakörnelung gesehen; Beispiele sind mit Mühe hier und dort zu finden; eines von solchen ist in Fig. 3a abgebildet. Sehr oft dagegen kommen Elemente vor, von welchen man mit bestem Willen nicht sagen kann, ob sie ruhende Wanderzellen oder Fibroblasten sind (Fig. 2 *ruh. Wz.?*). Der Kern ist im Vergleich mit den Fibroblasten kleiner, rundlicher und schärfer konturiert; im Kerninnern befinden sich gröbere Chromatinpartikelchen, die eine größere Affinität für die Farbstoffe besitzen. Der Zelleib kann sehr unregelmäßig geformt sein; sehr oft auch im subkutanen Bindegewebe habe ich kleine Formen gefunden, deren Protoplasma mit kurzen, plumpen Vorsätzen versehen ist (Fig. 3b, c, d, e). Ich habe auch diese Elemente den ruhenden Wanderzellen zugerechnet.

Von diesen Formen kommt man allmählich zu anderen, die noch kleinere, dunklere Kerne besitzen und deren Zelleib viel weniger ausgebreitet ist (Fig. 4 *a* und *a'*). Der scharf konturierte Kern enthält stark färbbare, unregelmäßig geordnete Chromatinpartikelchen verschiedener Größe und hat im allge-

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

meinen eine ziemlich rundliche Gestalt. Daneben findet man auch Zellen, deren Kern zwar unregelmäßig oder nierenförmig gebogen ist (Fig. 4 *b*, *c*, *c'*). Die Protoplasmastruktur dieser Zellen scheint auch feinnetzig zu sein und weist übrigens unregelmäßige Vorsprünge auf. Die oben beschriebenen Elemente sind ohne weiteres als Lymphocyten (kleine amöboide Wanderzellen Maximows) aufzufassen; sie sind bei der Maus nur als spärliche Exemplare im echten subkutanen Gewebe zu finden; in etwas größerer Menge kommen sie in der Nähe der Gefäße, der Nerven und im Stützgewebe der Mamma, bei Uebergang des subkutanen Bindegewebes in das Cutisgewebe, vor.

Ueber die Mastzellen der Maus (Fig. 2 *Mz*) habe ich nicht viel Neues zu sagen, dieselben sind in keiner Weise von denen der Ratte verschieden.

Die polymorphkernigen Leukocyten sind bei der Maus schon im normalen Bindegewebe in außerordentlicher Menge vorhanden (Fig. 2 *pl. Lkc*). Ihr Kern ist in verschiedener Weise gebogen, manchmal scheint er einen geschlossenen Ring zu bilden; im Kerninnern befinden sich feine Chromatinpartikelchen und einige etwas größere Granula, die kaum als Nukleolen gedeutet werden können. In Mbl.-, Az.- und Eh.-Präparaten tritt der Zelleib als eine dünne, zarte, sehr wenig gefärbte, den Kern enthaltende Lamelle hervor; in Z.G.-Präparaten ist er, da die sehr feine, staubartige, spezifische Körnelung leicht rosa erscheint, besser sichtbar.

Echte eosinophile Leukocyten habe ich im normalen Bindegewebe der Maus nicht gefunden.

Die Fettzellen der Maus sind mit denen des Subkutangewebes der Ratte identisch; die Fettzellen besitzen einen ziemlich großen, im allgemeinen rundlichen Kern, welcher einige große Nukleolen und staubartige Chromatinpartikelchen enthält; das Protoplasma ist durch eine sehr ausgeprägte netzartige Struktur bemerkenswert (Fig. 5).

Die Plasmazellen, die Makrophagen, die Wanderzellen sind normalerweise im Subkutanbindegewebe der Maus nicht vorhanden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bindegewebselemente von progressiv wachsenden Tumoren (Carcinomen).

A. Frühstadien.

Was die erste Gruppe von Versuchen betrifft, blieb mir nur übrig, die schon von Bashford, Murray und Cramer[1]), sowie die von Russell[2]) in demselben Sinne gemachten Beobachtungen noch einmal einer Kontrolle zu unterziehen.

Bashford, Murray und Cramer haben die Veränderungen, welche in den geimpften Carcinombruchstückchen und im umliegenden Gewebe vorkommen, von 2 Stunden an bis zu mehreren Tagen nach der Impfung verfolgt. Schon in den ersten Stadien haben die Verf. eine starke Einwanderung von polymorphkernigen Leukocyten in der direkten Umgebung der Implantation beobachtet. Nach 15 Stunden aber entfernen die polymorphkernigen Leukocyten sich von den gesunden Teilen des Tumors und sammeln sich in den Zwischenräumen des Stroma und da, wo nekrotisches Gewebe zu finden ist. Ungefähr zu derselben Zeit haben die Verf. in den umliegenden Bindegewebszellen die ersten Proliferationserscheinungen beobachtet; die Zellen traten etwas kürzer und dicker hervor, die Kerne nahmen eine elliptische Form an und endlich teilten sie sich amitotisch; den amitotischen folgten bald mitotische Teilungen und in dieser Weise vermehrte sich die Zahl der Bindegewebszellen sehr rasch. Dieselben drangen danach in den Tumor hinein, während das mit der Greffe überpflanzte Stroma nach und nach zugrunde ging. Ungefähr am 8. Tage war der ganze Prozeß beendet; einige von den neuen Bindegewebselementen schienen eine phagocytäre Funktion auszuüben und waren von zellulären Trümmern überfüllt; andere nahmen eine etwas mehr langgestreckte Form an, und gewannen wieder ihren ursprünglichen Charakter. Diese Versuche wurden durch Russell bestätigt. Er hat auch in den ersten Stunden die starke Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten und ihr folgendes Ansammeln in den nekrotischen Teilen der Greffe, ferner in dem degenerierenden alten Stroma beobachtet. Nach Russell wandern zusammen mit den polymorphkernigen Leukocyten auch Lymphocyten in die Greffe hinein, und am zweiten Tage sind in den Spalten des geimpften Tumors auch Polyblasten sichtbar. In den folgenden Tagen aber verschwindet allmählich der größte Teil der polymorphkernigen Leukocyten sowie der Polyblasten; das alte Stroma

---

1) E. F. Bashford, J. A. Murray and W. Cramer, Source of the constituent Elements of new Growths obtained by artificial Propagation. (II. Scientific Report of the Imp. Canc. Research Fund, Part II, London, Taylor & Francis, 1905.) — Stroma is a specific reaction on the part of the Host, Ibidem.

2) B. R. G. Russell, The Nature of the Resistence to the Inoculation of Cancer. III. Scientific Report, 1908, p. 341.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

degeneriert und an seiner Stelle tritt eine starke fibroblastische Reaktion auf, von welcher das Stützgewebe des neuen Tumors sich entwickelt.

Andere Arbeiten, welche in Details die Bildung des neuen Stroma bei gut wachsenden Tumoren der Mäuse verfolgen, sind meines Wissens nach, außer dem Aufsatz von Löwenthal und Michaelis[1]), in diesen letzten Jahren nicht erschienen.

Es ist an dieser Stelle zu bemerken, daß alle Autoren, welche experimentell über die Krebsfrage gearbeitet haben, annehmen, daß im allgemeinen das überpflanzte Stroma zugrunde geht; nur in gewissen Fällen ist angenommen, daß einzelne Elemente des alten Stroma fortleben können, und in Beziehung mit der Entstehung von Mischtumoren und von Sarkomen gebracht worden[2]). In den von mir untersuchten Frühstadien habe auch ich eine allmähliche Degeneration der mit dem Tumor überpflanzten Bindegewebselemente beobachtet.

Meine eigenen Versuche wurden besonders mit den Carcinomen 27 und 63 des Bashfordschen Laboratoriums angestellt. Vom ersteren (27) habe ich kleine Bruchstückchen mit der feinen Hohlnadel in normale Mäuse geimpft; vom zweiten (63) wurden mit derselben Methode größere Stückchen in Mäuse, die 15 Tage vorher mit 0,1 ccm desselben gefrorenen und zerriebenen Materials behandelt waren, inokuliert. Für jedes Experiment habe ich 20 Tiere gebraucht; dieselben wurden einmal nach 1, 2, 4, 6, 8 und 11 Tagen, das andere Mal nach 1, 2, 3, 4, 6, 9 und 12 Tagen getötet, und das Material in verschiedenen Flüssigkeiten fixiert. Tumor 63 ist in entsprechenden Zeiträumen viel rascher gewachsen, was zum Teil wahrscheinlich den verhältnismäßig größeren transplantierten Stückchen zuzuschreiben ist; histologisch aber habe ich in Serienschnitten der Frühstadien dieser zwei Tumoren keine Verschiedenheit gefunden, so daß ich meine Beobachtungen in einer einzigen Beschreibung zusammenfassen kann.

Das erste in Betracht kommende Phänomen ist die Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten; sie sind in außerordentlicher Menge überall vorhanden, besonders wo nekrotisches Gewebe zu finden ist; sie überfüllen die Zwischenräume der Implantation, die Spalten zwischen dieser und umliegendem Gewebe, erstrecken sich sehr weit von den Tumor-

1) Löwenthal und Michaelis, Ueber den Krebs der Mäuse. Zeitschr. für Krebsforschung, 1906, Heft 3.

2) Siehe Haaland, Contributions to the Study of the Development of Sarcoma under Experimental Conditions. The III. Scientific Report of the Imp. Canc. Research Fund, 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zellen weg und sind entweder in kleinen Anhäufungen oder zerstreut zwischen den muskulären Fasern, dem Fett- und Cutisgewebe, vorhanden. Besonders in Z.G.-Präparaten der ersten 24 Stunden lassen viele von denselben die spezifische pseudoeosinophile Körnelung leicht erkennen. Echte eosinophile Zellen habe ich in diesen frühen Perioden sehr selten gesehen; später aber, nach dem 4. und 6. Tage, kommen sie in ziemlich großer Menge in der Nähe von erweiterten Kapillaren und von kleinen Blutungen vor [1]) (Fig. 6 *eos.Lkc.*).

Die polymorphkernigen Leukocyten üben unter aseptischen Bedingungen keine sichtbare phagocytäre Tätigkeit aus. Wie die oben erwähnten Autoren habe ich auch eine allmähliche Verminderung ihrer Zahl bemerkt; ungefähr am vierten Tage sind sie verschwunden, welche Zeitperiode im allgemeinen mit der Degeneration des alten Stroma übereinstimmt. Diese Verminderung kann natürlich etwas früher oder später eintreten, je nach der Größe des verpflanzten Stückes und vor allem nach der Quantität des mit der Implantation geimpften nekrotischen Gewebes. Das Verschwinden scheint teils durch aktive Auswanderung, teils aber durch Zerfallen an Ort und Stelle vorzukommen; tatsächlich ist es sehr leicht, besonders nach den ersten 24—48 Stunden, zu beobachten, daß die spezifische Körnelung nicht mehr färbbar, und das Protoplasma nicht mehr sichtbar ist; die Kerne unterliegen den mannigfaltigsten Deformationen, ihre Affinität für die Farbstoffe wird stark verändert, sie zerfallen in strukturlose Stückchen, die endlich

1) In den letzten Jahren, besonders nach den äußerst interessanten Untersuchungen von Stschastnyi, halten viele Autoren für festgestellt, daß die eosinophilen Leukocyten leukocytäre Elemente sind, die auf dem Wege der Phagocytose die Trümmer von zerfallenen Erythrocyten aufgenommen haben; mit anderen Worten die Entstehung der eosinophilen Granulationen wäre in Zusammenhang mit der Hämolyse zu setzen. Es wäre zwecklos, in dieser Arbeit die wichtige Frage der Histogenese der eosinophilen Körnelung zu erörtern, ich möchte aber hervorheben, daß ich in diesen morphologischen experimentellen Untersuchungen über die Krebsimmunität, eosinophile Leukocyten in der Nähe von Blutungen oder Blutkörperchenresten gefunden habe, was mit der oben erwähnten Meinung übereinstimmen könnte. Eine gut zusammengefaßte Literatur darüber ist in der Arbeit von Stschastnyi (Zieglers Beiträge, Bd. 38, 1906) und in der von Weidenreich (Arch. f. mikr. Anat., Bd. 72, 1908) zu finden.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

170193

vollständig zugrunde gehen. Eine kleine Zahl der polymorphkernigen Leukocyten bleiben als dauernde Elemente im neuen Stroma, sie scheinen zwar etwas größer zu werden und in stabile Gewebselemente sich umzuändern.

Zwischen den polymorphkernigen Leukocyten findet man schon nach 24 Stunden eine ziemlich große Zahl von kleinen, rundlichen Elementen, die in keiner Weise von den innerhalb der Gefäße enthaltenen Lymphocyten des Blutes, resp. von den gleichgenannten des normalen Bindegewebes verschieden sind. Sie liegen in kleinen Gruppen oder zerstreut in der Masse der polymorphkernigen Leukocyten, sind aber am besten in einer gewissen Entfernung von der Implantation im Fettgewebe und in der Nähe von den Gefäßen zu beobachten. Zu dieser Zeit sind die Lymphocyten von den ruhenden Wanderzellen leicht zu unterscheiden; letztere (die ruhenden Wanderzellen), obwohl sie sich etwas abgerundet haben, treten zwar als ziemlich größere und protoplasmareichere Elemente hervor; später aber, während einige Lymphocyten ihre Form bewahren und als solche an der Peripherie und im Stroma des neuen Tumors bleiben, scheinen andere sich progressiv zu ändern, so daß es schon am zweiten Tage sehr schwer zu sagen ist, ob sie Lymphocyten oder ruhende Wanderzellen sind. Ein solches Phänomen habe ich auch in Experimenten anderer Art, z. B. nach Embryonenhautverpflanzung, beobachtet. Wie in Fig. 40 *Wz.* leicht zu erkennen ist, haben die Kerne sich vergrößert und die verschiedensten Formen angenommen; die Affinität für die Farbstoffe ist auch hier und dort eine andere geworden, so daß die Kerne als dunklere oder hellere heraustreten; im Protoplasma von vielen dieser Zellen ist auch eine ganz feine schwarze, resp. blaue Körnelung zu beobachten, andere endlich scheinen phagocytäre Eigenschaften auszuüben. Diese Elemente, welche nicht mehr als Lymphocyten oder als abgerundete ruhende Wanderzellen zu erkennen sind, entsprechen ganz genau den Maximowschen Polyblasten und den „wandering cells“ von Bashford und Murray; ich werde also für dieselben im folgenden die oben als passend vorgeschlagene Benennung — Wanderzellen — brauchen.

Wie oben erwähnt, unterliegt die Zahl der polymorphkernigen Leukocyten nach und nach einer Verminderung; die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lymphocyten dagegen scheinen gleichzeitig sich etwas zu vermehren; diese Vermehrung bleibt jedoch bei gutwachsenden Tumoren in bestimmten Grenzen und ist keineswegs mit den übermäßigen, bei anderen Arten von Experimenten, vorkommenden Anhäufungen von Lymphocyten zu vergleichen.

Was die Fibroblasten betrifft, kann ich im allgemeinen bestätigen, daß besonders nach dem zweiten Tage die Fibroblasten sich isolieren, und die Konturen ihrer Zelleibe besser erkennen lassen; während einige sich verkürzen und abrunden, nehmen andere etwas größere Formen an, ihre Zahl durch amitotische und mitotische Teilungen vermehrt sich sehr rasch; sie treten ungefähr am 4. Tage in die Implantation hinein, wo sie hauptsächlich das Stroma des neuen Tumors bilden. Keine Beschreibung dieser Tatsache kann demonstrativer sein als die Fig. 7, welche eine Reproduktion der S. 348 des III. Scientific Report of the Imp. Canc. Res. Fund in der Arbeit von Russell publizierte Abbildung 3 ist. Damit sollen auch die von Bashford, Murray und Cramer schon im II. Scientific Report, Part II, p. 28 gegebenen Abbildungen 17—20 verglichen werden. In den folgenden Tagen nehmen die Fibroblasten eine gestreckte Form und plattes Aussehen wieder an, und bilden in dieser Weise das eigentliche zarte Stroma des erwachsenen Tumors.

Während die tieferen Teile des Stützgewebes der neuen Geschwulst hauptsächlich durch Fibroblasten gebildet werden, nehmen im Gegenteil an der Bildung der peripherisch liegenden Bindegewebsschichten die ruhenden Wanderzellen einen ziemlich bedeutenden Anteil. Ich habe mich davon überzeugt, indem ich meine eigenen und vergleichsweise die Russellschen Präparate untersucht habe. In der Tat sind in der Peripherie der neuen Tumoren zwischen den Fibroblasten, den polymorphkernigen Leukocyten und den gebliebenen oben erwähnten Lymphocyten, durch die starke Färbung der Kerne und durch die feine schwarze resp. tiefblaue Körnelung auch ruhende Wanderzellen zu erkennen. Ein Teil der letzteren scheint durch progressive Veränderungen der erwähnten Wanderzellen zu entstehen, ein anderer Teil aber auch durch die Proliferation der schon im Bindegewebe normalerweise existierenden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ruhenden Wanderzellen. Zwar findet man schon am 2. Tage im Bindegewebe, besonders in der Nähe von Gefäßen und in einer gewissen Entfernung von dem geimpften Material einige in Mitose begriffene Elemente, welche nur als ruhende Wanderzellen gedeutet werden können. Meine Abbildungen 31 und 38 können sehr gut als Beispiel dieser Tatsache, obwohl sie nicht aus Präparaten von progressiv wachsenden Tumoren abgebildet sind, dienen, da dieses Phänomen bei allen Experimenten vorkommt.

Ueber die Bildung des neuen Stromas habe ich nur hinzuzufügen, daß ungefähr am 8. Tage in den tieferen Teilen der schon gut entwickelten Tumoren charakteristische Makrophagen in kleiner Zahl zu erkennen sind. Die Form der Kerne und die feinnetzige Struktur ihres Protoplasmas verhindern irgend eine Verwechselung. Diese Makrophagen liegen besonders in der Nähe von kleinen Blutungen, die speziell bei Tumor 63 schon zu dieser Zeitperiode zu erkennen waren.

Kommen bei Frühstadien von progressiv wachsenden Tumoren Plasmazellen vor? Bis zum 8. Tage glaube ich die Anwesenheit von Plasmazellen ausschließen zu können. In den folgenden Tagen aber sind sie in kleinen, spärlichen Anhäufungen zu finden. Zu dieser Zeitperiode aber kann man nicht mehr eigentlich von Frühstadien, sondern von vollständig entwickelten obwohl kleinen Tumoren sprechen. Ich halte also für zweckmäßig, über die Anwesenheit von Plasmazellen in der folgenden Analyse der Bindegewebselemente von vollständig entwickelten Carcinomen zu berichten.

Was die Gefäßbildung bei Frühstadien betrifft, habe ich den oben erwähnten Beobachtungen von Bashford, Murray und Cramer nichts Neues hinzuzufügen.

B. Vollständig entwickelte Tumoren.

Für diese Versuche bediente ich mich besonders der Tumoren 63 und 27, von welchen, wie von allen anderen, in der Sammlung des Laboratoriums Serienpräparate aller aufeinanderfolgenden Generationen vorhanden sind. Einzelne Präparate von spontanen, mehr oder weniger stromareichen Carcinomen habe ich sehr oft im Institut Gelegenheit gehabt zu untersuchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Abgesehen von der anatomischen Anordnung und dem Reichtum des Bindegewebes, sind die Befunde immer dieselben. Bei vollständig entwickelten Carcinomen der Mäuse sind in erster Linie die Elemente des normalen Subkutangewebes zu finden; die Fibroblasten bilden die Hauptmasse des Stromas und der peripherisch liegenden Bindegewebsschichten. Manchmal findet man hier und dort Exemplare, die durch ihren größeren Umfang und durch den besser konturierten Zelleib bemerkenswert sind; selten habe ich Fibroblasten, die auf dem Wege waren, sich mitotisch zu teilen, gefunden (Fig. 8 *Fbl.*).

Die ruhenden Wanderzellen sind in größerer Menge als im normalen Bindegewebe vorhanden; sie sind durch die ganz feine, schwarz resp. tiefblau im Protoplasma liegende Körnelung leicht zu erkennen (Fig. 8 *ruh. Wz.*). Der Zelleib scheint sehr oft stärker entwickelt zu sein und ist auch viel schärfer konturiert. Die ruhenden Wanderzellen treten besonders, wie auch die großen Fibroblastenformen, in den peripherischen Bindegewebsschichten hervor, was wahrscheinlich im Zusammenhang mit der für den progressiv entwickelten Tumor notwendigen Bildung von neuem Stützgewebe zu setzen ist.

Was die polymorphkernigen Leukocyten betrifft, habe ich dem über die Frühstadien oben Gesagten nichts hinzuzufügen.

Die Zahl der Lymphocyten (kleine amöboide Wanderzellen) scheint im Gegenteil im Vergleich mit dem normalen Bindegewebe sich vermehrt zu haben (Fig. 8 *Lmc.*); in den progressiv sich entwickelnden Teilen bilden sich tatsächlich immer neue Kapillaren und kleine Gefäße, in deren Umgebung wieder Lymphocyten vorhanden sind. Wie bekannt, beobachtet man fast in allen Mäusetumoren sehr oft kleine oder große Blutungen und es ist möglich, daß dadurch auch neue lebendige Lymphocytenformen im Gewebe vorkommen können; es wäre endlich kaum denkbar, daß ein Carcinom, d. h. vom mechanischen Standpunkt ein außerordentlich großer Fremdkörper, im Subkutangewebe sich entwickeln könnte, ohne irgendwelche lymphocytäre Reaktion hervorzurufen.

Uebergangsformen zwischen den Lymphocyten und den ruhenden Wanderzellen sind zu finden, nicht aber in so reichlicher Menge, wie aus den Beobachtungen über die Frühstadien zu erwarten wäre.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Im Stroma von vollständig entwickelten Carcinomen habe ich sehr oft Mastzellen gefunden. Schon Bashford, Murray und Cramer bemerkten in der oben erwähnten Arbeit, daß an der Peripherie der geimpften Bruchstückchen Mastzellen vorhanden sind; diese sind aber im Gewebe präexistierende Elemente und scheinen keinen Teil an der Bildung des neuen Stromas zu nehmen. Ich habe dasselbe beobachtet, möchte aber hinzufügen, daß ungefähr am 8. Tage nach der Transplantation, in den ziemlich tiefen Teilen des Stützgewebes des neugebildeten Tumors, Mastzellen zu finden sind und im Stroma von vollständig entwickelten Tumoren (Carcinomen) wieder vorkommen ohne irgendeine Veränderung an ihrem normalen Aussehen erkennen zu lassen. Ich habe mit großer Sorgfaltig untersucht, ob Teilungsphasen bei Mastzellen hervortreten, aber erfolglos. Ich wäre also geneigt zu denken, daß sie die präexistierenden Bindegewebselemente sind, welche entweder durch aktive Bewegung ins Tumorstroma eintreten, oder durch neue Carcinomsprossen passiv umwachsen werden können und lange Zeit unzerstört im Stützgewebe des sich neu bildenden Carcinoms bleiben.

Bei gut entwickelten Tumoren sind noch Plasmazellen vorhanden; ihre Zahl ist im allgemeinen klein und sie liegen gewöhnlich in kleinen Anhäufungen mit Lymphocyten vermischt. Um sich eine richtige Idee ihrer Lage zu machen, ist die in diesem Institute jahrelang gebrauchte Methode der Materialkonservierung am besten geeignet. Wie schon Bashford und seine Mitarbeiter vielmals betont haben, wird in diesem Laboratorium von jedem Tumor eine durch die größte Breite ausgeschnittene Scheibe für histologische Untersuchungen fixiert und eingebettet. Die Schnitte werden immer in Serien gemacht und stellen in dieser Weise optische Sektionen des ganzen Tumors dar; man findet sich so im bestmöglichen Zustand, um über die verschiedenen Einzelheiten zu urteilen: in so hergestellten Serienschnitten ist leicht bei kleinen Vergrößerungen zu bemerken, daß es hier und dort, abgesehen von in Nekrose zerfallenen Tumorteilen, Stellen gibt, wo die Färbbarkeit des Parenchyms vermindert und das Stützgewebe viel mehr als in den gesunden Teilen des Tumors ausgebreitet ist. Man findet in diesen Punkten bei stärkeren Vergrößerungen

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

die kleinen Anhäufungen von Plasmazellen und Lymphocyten. Es ist dagegen nötig, mehrere Präparate zu untersuchen, um im Stroma der gesunden, wohlentwickelten Tumorteile vereinzelte zweifelhafte Exemplare von Plasmazellen zu finden. Ein meiner Meinung nach sehr schönes Beispiel dieser Tatsache bildet die Fig. 9, welche einen vollständigen optischen Schnitt mit umliegendem Fett- und Bindegewebe des Carcinoms 27, 11 Tage nach der Impfung, darbietet. Während auf der einen Seite die Carcinomzellen sehr schön zu wachsen scheinen resp. sehr gut färbbar sind und die Bindegewebselemente nur eine ganz feine Schicht bilden, ist auf der anderen Seite das Parenchym teilweise degeneriert resp. seine Affinität für die Farbstoffe sehr vermindert, und hier bilden die Bindegewebszellen eine mehr verbreitete Zone. Die Beobachtung der Präparate unter stärkerer Vergrößerung ließ auf der degenerierten Seite ganz kleine Anhäufungen von Plasmazellen und Lymphocyten erkennen.

Wie oben erwähnt, habe ich für die Untersuchungen über Frühstadien immer vollständige Serien gebraucht; auf diese Weise wurde es leicht, die in Fig. 9 abgebildete Degeneration, resp. schlecht färbbare Parenchymstelle und die plasmazellulären und lymphocytären kleinen Anhäufungen durch mehrere Schnitte zu verfolgen. Nach und nach verkleinerte sich die in Betracht kommende Stelle und wurde allmählich von gesundem Parenchym ersetzt, gleichzeitig aber verschwanden auch die genannten plasmacellulären und lymphocytären Anhäufungen. Dieselbe Tatsache habe ich in Serienschnitten des Carcinom 63, obwohl in nicht so deutlicher Weise, wahrgenommen. Ich wäre also geneigt, die beschriebene Anwesenheit von Plasmazellen und Lymphocyten in Zusammenhang mit Punkten von partieller Spontanheilung zu setzen. Ueber das Vorkommen von einem solchen Phänomen bei Mäusen sind, glaube ich, alle Autoren einig; auch kann man sich davon leicht durch Beobachtung von regelmäßig in bestimmten Zeitperioden aufgenommenen Silhouetten gut gewachsener Tumoren überzeugen; man sieht, wie sehr oft dieselben nach einer gewissen Richtung hin sich zu entwickeln fortfahren, während andere Teile allmählich kleiner werden und endlich verschwinden.

Generated on 2019-01-12 21:44 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Ich wollte nur hervorheben, daß Punkte von partieller Spontanheilung in Beziehung zu einer bestimmten zellulären Reaktion zu stehen scheinen.

Bei gut entwickelten Tumoren habe ich nur selten in der Nähe von mehr oder weniger kleinen Blutungen Makrophagen gefunden.

Riesenzellen habe ich nie beobachtet, möchte aber nicht absolut ausschließen, daß sie an partiellen Heilungsstellen vorkommen können.

Die spontane Heilung.

In den Arbeiten der verschiedenen Autoren, die sich experimentell mit der Krebsfrage beschäftigt haben, ist es wiederholt betont worden, daß Mäusecarcinome spontan heilen und vollständig verschwinden können, und daß nachher die Tiere gegen eine zweite Impfung desselben Tumors resistent resp. immun sind.

Nach dieser Richtung hin sind, meines Wissens nach, die bis jetzt gemachten Versuche sehr spärlich. Gaylord, Clowes und Baeslack erwähnen in einer vorläufigen Mitteilung [1]) über die Anwesenheit eines Immunstoffes in spontan geheilten Krebsmäusen, daß die histologische Untersuchung spontan zurückgehender Tumoren eine Bindegewebswucherung mit verbreiteten rundzelligen Infiltrationen zeigt. Eine genauere Beschreibung der Prozesse bei der Spontanheilung wurde von Bashford [2]) und von Bashford, Murray und Cramer [3]) gegeben. Die letzten Autoren haben eine Bindegewebsüberwucherung rings um den Tumor, sowie in seinen tieferen Teilen, gefunden: „Mehrere Alveolen waren vom Stroma durch einen mit Makrophagen gefüllten Spalt abgetrennt. Hier und dort konnten noch lebendige Zellen im verdichteten Bindegewebe und zwischen polynukleären Riesenzellen gesehen werden". Die Verf. erinnern noch an das Vorkommen von Blutungen. Diese Erscheinungen sind nach den Verf. nicht von denen, welche bei der Behandlung von Mäusetumoren mit Radium oder mit einer radioaktiven Lösung, oder auch mit einer toxischen Dose

---

1) Gaylord, Clowes and Baeslack, Preliminary Report on the presence of an immune body in the Blood of Mice spontaneously recovered from Cancer etc. Medical News, Jan. 14, 1905.

2) Bashford, The Growth of Cancer. Transactions of the Medical Society of London, March 13, 1905. (Discussion.)

3) Bashford, Murray and Cramer, Action of Radium on transplanted Mouse Tumours and its relation to the spontaneous arrest of their Growth. Second Scientific Report, April 1905.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

von Adrenalin auftreten, zu unterscheiden. Gaylord und Clowes[1]) haben nachher wieder dieselbe Frage behandelt. Sie haben auf das häufige Vorkommen von Spontanheilungen, sowie auf die Verhältnisse zwischen Größe der Tumoren und Heilungsmöglichkeit spezielle Aufmerksamkeit gelenkt. Vom histologischen Standpunkt beschreiben sie nochmals die starke Bindegewebswucherung, die rundzellige Infiltration, die Anwesenheit von Blutungen, die durch Verschmelzung der atrophischen Epithelelemente vorkommende Bildung von Pseudoriesenzellen, endlich die Einwanderung von neuen Kapillaren in das proliferierte Gewebe.

Ich habe das Phänomen der Spontanheilung nochmals studiert, und besonders die Natur der von den erwähnten Autoren beobachteten rundzelligen Infiltration, sowie das Verhältnis zwischen den verschiedenen Bindegewebselementen, die an diesem Prozeß teilnehmen, festzustellen versucht.

Meine Versuche wurden am Anfang mit Carcinomen 27, 32, 65, Borrels und Jensens Tumor, in welchem der Resorptionsprozeß ziemlich weit vorgeschritten war, angestellt. Obwohl die Neubildungen makroskopisch noch einen gewissen Umfang hatten (3—5 mm Durchm.), waren von Parenchym nur vereinzelte Inseln zu finden; ein üppiges Reaktionsgewebe bildete die übrige Tumormasse. Von den erhaltenen Carcinomzellen schienen einige in keiner Weise verändert zu sein; der Kern und das Protoplasma hatten ihre eigentliche Struktur, sowie ihre Färbbarkeit bewahrt; die Zellgrenzen waren noch scharf konturiert (Fig. 11 a), hier und dort, obwohl sehr selten, konnte man auch unzweifelhafte Mitosen finden. Die meisten Carcinomelemente fanden sich aber in mehr oder weniger vorgeschrittenen Degenerationsphasen; sie hatten im ganzen an Umfang verloren, die Kernstruktur war nicht mehr deutlich sichtbar, das Protoplasma ließ kleine Vakuolen bemerken, während seine Grenzen sehr oft unregelmäßig geworden waren; an einigen Stellen fand man kleine Gruppen von 3, 4 oder mehreren Zellen, die eine zusammengeklebte Masse gebildet hatten (Fig. 11 b).

In Präparaten von Carcinomen, die auch makroskopisch etwas weiter zurückgegangen waren (2—4 mm Durchm.), beobachtete man noch, besonders in den zentralen Teilen, Parenchymreste, deren Elemente aber in einem noch weiter

1) Gaylord and Clowes, On spontaneous Cure of Cancer. Surg. Gyn. and Obst., Vol. 2, No. 6, June 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorgeschrittenen Degenerationsstadium sich befanden; die Kerne traten dunkler und kleiner als in Kontrollpräparaten von entsprechend gut entwickelten Tumoren hervor; im Kerninnern konnte man kaum die gewöhnliche Chromatinanordnung erkennen; das Protoplasma hatte nur am Rande eine gewisse Färbbarkeit behalten, so daß es als eine feine durchsichtige, den Kern enthaltende Hülle, sich zeigte; auf mehreren Stellen waren trotz der so weit vorgeschrittenen Degeneration die Zellgrenzen noch deutlich erkennbar durch die etwas mehr gefärbten Ränder (Fig. 12). Die in dieser Weise degenerierten Carcinomzellen sind mit den gewöhnlichen strukturlosen nekrotischen Massen nicht zu verwechseln; die beiden Bilder können jedoch eins neben dem anderen existieren. Ob es sich um Vorstadien der Nekrose handelt, und in welcher Beziehung die jetzt beschriebene langsame Degeneration der Carcinomzellen mit der Krebsimmunitätsfrage stehen kann, werde ich in der Zusammenfassung meiner Beobachtungen in Diskussion bringen.

Bei Carcinomen in vorgeschrittenem Stadium von Resorption (1—2 mm Durchm.) findet man gewöhnlich keine Spuren von Carcinomzellen.

Was das Reaktionsgewebe betrifft, werde ich auch hier der Klarheit halber, die verschiedenen Bindegewebselemente einzeln betrachten.

Die polymorphkernigen Leukocyten spielen bei der Spontanheilung nur eine untergeordnete oder gar keine Rolle; phagocytäre Eigenschaften scheinen sie auch bei der Resorption nicht auszuüben.

Eosinophile Leukocyten habe ich in verschiedenen Präparaten, obwohl nicht in großen Mengen, auch bei der Spontanheilung bemerkt; sie treten besonders da, wo kleine Blutungen vorgekommen sind, hervor (Fig. 10).

Die Lymphocyten (kleine ruhende Wanderzellen) bilden bei zurückgehenden Carcinomen die Hauptmasse des Reaktionsgewebes. In Tumoren, welche für die histologische Untersuchung zusammen mit dem umliegenden Fett- und Bindegewebe oder Muskelfasern konserviert wurden, liegen sie zwischen den Fettläppchen und den Spalträumen der Muskelfasern in mehr oder weniger

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

großen Anhäufungen; von dort an erstrecken sie sich in den Tumor bis in seine tieferen Teile hinein zwischen den erhaltenen Parenchymzellen (Fig. 11). An einigen Stellen sammeln sie sich derart, daß sie unter schwacher Vergrößerung den Eindruck kleiner Lymphknötchen machen. Größtenteils gehören sie zu den sogenannten kleinen Lymphocyten und den kleinen mononukleären Leukocyten, große Formen (große mononukleäre Leukocyten) kommen jedoch auch sehr oft vor. Strukturell sind sie von den normalen gleichgenannten Blutelementen, sowie von den Lymphocyten des Bindegewebes nicht zu unterscheiden.

Wanderzellen und ruhende Wanderzellen im Reaktionsgewebe von sich resorbierenden Carcinomen, die noch einen gewissen Umfang haben, sind nicht in größerer Menge als in peripherisch liegenden Bindegewebsschichten von gut entwickelten Tumoren zu finden. Nur später, wenn der Rückbildungsprozeß zu Ende ist, kommen diese Elemente viel öfter vor; zu dieser Zeit aber hat sich die Zahl der Lymphocyten schon vermindert und das Reaktionsgewebe ist allmählich dem Narbengewebe mehr ähnlich geworden; auf diese Weise kommen Bilder, die nicht von denen Maximows verschieden sind, vor.

Auch die Fibroblasten nehmen keinen großen Teil an der Bildung des Reaktionsgewebes; sie vermehren sich zwar während des ganzen Prozesses und Mitosen kommen ziemlich oft vor; auch ungewöhnlich große oder kleine Formen und amitotische Teilungen sind nicht sehr selten. Ihre Zahl scheint aber beschränkt zu sein, wenigstens solange Parenchymreste im Tumor noch erhalten sind; später, wenn die Zahl der Lymphocyten sich zu vermindern anfängt und die Carcinomzellen verschwunden sind, sind es die Fibroblasten, welche zusammen mit den Wanderzellen und den ruhenden Wanderzellen den größten Teil im letzten Cicatrisationsstadium des Prozesses einnehmen.

Zusammen mit den Lymphocyten sind noch im Reaktionsgewebe Plasmazellen vorhanden; mit gut wachsenden Tumoren verglichen, ist ihre Zahl außerordentlich vergrößert; es handelt sich nicht allein um vereinzelte Anhäufungen oder um spärliche Exemplare, sondern um eine wirkliche plasma-

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

zelluläre Infiltration des ganzen Reaktionsgewebes; an einigen Stellen sammeln sie sich derart, daß sie fast allein das mikroskopische Feld beherrschen. Gewöhnlich liegen sie, wo Lymphocyten vorkommen (Fig. 11); abgesehen von vereinzelten Zellen bleiben sie aber in einer gewissen Entfernung von den noch lebenden Carcinomzellen. Herde von Plasmazellen sind besonders in der Umgebung von kleinen Gefäßen und von Kapillaren zu finden (Fig. 13); sie treten aber auch an Orten, wo keine Gefäße sind, hervor. Sie sind bei zurückgehenden Tumoren schon in den ersten Stadien des Reaktionsprozesses bemerkbar. Solange die Tumoren nur wenig an Umfang verloren haben und die Parenchymelemente sich noch energisch teilen, sind es die Plasmazellen, welche besonders das Charakteristische des Resorptionsprozesses bilden (Fig. 14). Vergleicht man z. B. meine Fig. 8 und Fig. 14, obwohl sie unter verschiedenen Vergrößerungen aufgenommen sind und nicht von demselben Tumor stammen, so kann man doch gleich bemerken, daß das Stroma bei einem im Anfang der Heilung befindlichen Carcinom von dem eines gut wachsenden Tumors nicht gründlich verschieden ist. Die Zahl der einzelnen Bindegewebselemente hat sich tatsächlich bei dem ersteren etwas vermehrt, ohne aber ein ganz anderes Bild zu geben. Jedoch bei heilenden Tumoren sind überall im Stroma und in den peripherisch liegenden Bindegewebsschichten Plasmazellen vorhanden; sie fehlen nur, wo große nekrotische Massen vorkommen. Nach und nach, während dem Fortgang des Resorptionsprozesses und der Einwanderung von großen Mengen von Lymphocyten und von neuen Gefäßen, vergrößert sich auch die Zahl der Plasmazellen, um sich wieder am Ende des Vernarbungsprozesses zu vermindern. Von den Plasmazellen behalten einige ihre sphärische Grundform, andere aber, und sehr oft die meisten, sind durch die von verschiedenen Autoren beschriebene, für alte Plasmazellen als charakteristisch angesehene, sehr mannigfaltige äußere Form bemerkbar; an der Peripherie ihres ovalen, polygonalen, länglichen, unregelmäßigen, 3- oder 4-eckigen Zelleibs sieht man kurze, meist stumpfe, viel seltener spitze Vorsprünge; Vakuolen von verschiedener Größe sind auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oft im Protoplasma vorhanden (Fig. 13); die Kerne behalten nicht immer ihre klassische Chromatinanordnung. Daß es sich hier um Plasmazellen handelt, kann, glaube ich, jedoch keinem Zweifel unterliegen; die Mannigfaltigkeit der Form ist nie so bedeutend, daß eine Verwechslung mit anderen Elementen vorkommen kann; die Kerne sind immer charakteristischerweise rundlich, verhältnismäßig klein, exzentrisch liegend und stark färbbar; die im Kerninnern enthaltenen Chromatinpartikelchen treten als etwas grobe, sehr tingible Körnchen hervor; im Zelleib ist die zusammengeballte stark färbbare Substanz, von unbekannter Natur, bemerkbar.

Während meiner Untersuchungen über die Spontanheilung habe ich festzustellen versucht, welches Schicksal die Mastzellen, die, wie wir gesehen haben, unverändert im Stroma von gut gewachsenen Tumoren bleiben, erleiden. Trotz der dieser Frage gewidmeten Aufmerksamkeit ist es mir sehr unklar geblieben, ob und was für einen Anteil diese merkwürdigen Elemente am Heilungsprozeß nehmen. Hier und dort zwischen den anderen Reaktionselementen, besonders wo Plasmazellen und Lymphocyten sich anhäufen, fand ich sehr oft Zellen, die durch ihre typische, metachromatisch gefärbte Körnelung als Mastzellen sich erwiesen; nur war ihr Zelleib kleiner und dementsprechend die Körnchen spärlicher geworden; was mit den übrigen Granula geschehen war, konnte ich nicht feststellen. Im Reaktionsgewebe habe ich zwar hier und dort zerstreut kleine Elemente beobachtet, deren Kerne sehr blaß und fast strukturlos erschienen und deren Körper mannigfaltige Formen hatten; im Protoplasma sah man wieder metachromatisch gefärbte Granula und dabei andere, die besonders in Az.-Präparaten blau tingiert waren (Fig. 15). Was diese Elemente eigentlich sind, konnte ich nicht genau bestimmen. Von der Form und Größe des Kernes, sowie des Zelleibes, und besonders von der noch typisch übrig gebliebenen Körnelung, wäre ich geneigt, zu denken, daß hier degenerierte Mastzellen vorliegen, und daß die Körnelung ihre Eigenschaft, sich metachromatisch zu färben, verliert oder sich in eine unbekannte Natur umändern kann.

In spontan heilenden Carcinomen sind noch Makrophagen zu finden (Fig. 16). Ihr Zelleib tritt oft sehr mannigfaltig

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

hervor; neben rundlichen findet man auch unregelmäßige oder nach verschiedener Richtung verlängerte Exemplare. Auch die äußere Form der Kerne kann etwas wechseln, wenn die Makrophagen grobe Zellenreste aufgenommen haben (Fig. 17). Ihre Größe variiert und kleine Exemplare sind oft mit großen vermischt; mehrere von diesen Zellen scheinen verschmelzen zu können und in dieser Weise polynukleäre Riesenzellen zu bilden (Fig. 18).

Die Makrophagen kommen bei Spontanheilung in den verschiedenen Tumoren in sehr variabler Menge vor und sind besonders da zu finden, wo noch nicht gänzlich zerfallene Elemente vorhanden sind, z. B. Blutkörperchen oder Parenchymzellen, die noch nicht vollständig zugrunde gegangen sind und ihre äußere Form ziemlich gut bewahrt haben (Fig. 11 und 12 *Mk.*). Zwischen nekrotischen Massen bin ich nie imstande gewesen, Makrophagenanhäufungen festzustellen; nur vereinzelte Exemplare kommen manchmal vor. Ihre Zahl vergrößert sich etwas in den letzten Stadien des Rückbildungsprozesses, und auch wenn bei den resorbierenden Carcinomen nicht mehr Parenchymzellen vorhanden sind, sieht man oft in den tieferen Teilen Stellen, wo nur Makrophagen liegen. Manchmal sind von Carcinomzellen noch kleine Inseln geblieben und die Makrophagen setzen sich um diese ringsherum, so daß sie einen Spalt zwischen Parenchymelementen und dem übrigen Reaktionsgewebe bilden, wie Bashford in seinen Fig. 44 und 59 l. c. schön gezeichnet hat.

Nach oben Gesagtem ist leicht zu verstehen, welche Funktion die Makrophagen bei Spontanheilung ausüben. Die in ihrem Protoplasma enthaltenen Zellenreste geben uns einen unzweifelhaften Fingerzeig; sie haben die Fähigkeit, verschiedene Degenerationsprodukte, sogar ganze Zellen, phagocytär aufzunehmen. Die phagocytäre Fähigkeit scheint nur bei Residuen, die noch nicht vollständig nekrotisch sind, vorzukommen. Ob diese Fressung von noch nicht vollständig zerfallenem Material, insbesondere von Parenchymzellen, in Zusammenhang mit der Entstehung der Krebsimmunität zu setzen ist, werde ich nach der Beschreibung meiner Beobachtungen weiter diskutieren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um die vorliegende analytische Uebersicht zu beendigen, sollen noch die Riesenzellen näher betrachtet werden. Wir haben schon oben gesehen, daß durch das Verschmelzen von Makrophagen große polynukleäre Elemente entstehen können (Fig. 18); der Bau ihres Protoplasmas scheint mir genügend charakteristisch, um Zweifel über ihre Herkunft auszuschließen. Riesenzellen bilden sich ferner durch Verschmelzung von Wanderzellen (Maximows Polyblasten), wie die Versuche von Ziegler, Arnold u. a., neulich von Maximow festgestellt haben. Ob dabei die Amitose eine Rolle spielt, will ich nicht verneinen, möchte nur erwähnen, daß ich sie in meinen Präparaten nie beobachtet habe; eine Beteiligung der Fibroblasten und der Gefäßendothelien an der Riesenzellenbildung, wie viele andere Autoren, namentlich Marchand und seine Schüler (v. Büngner, Hammerl, Justi) und Babes annehmen, kann ich, meinen Präparaten nach, nicht bestätigen. Die eben erwähnten Riesenzellen unterscheiden sich von denen, welche aus den Makrophagen entstehen, durch die Struktur des Protoplasmas; wie gesagt, ist der Zelleib der letzteren fein netzartig gebaut, die anderen besitzen dagegen eine mehr oder weniger ausgeprägte granulierte Struktur (Fig. 19, 20). Von diesen Riesenzellen habe ich nur einige Exemplare zeichnen lassen; es handelt sich um wohlbekannte und von verschiedenen Autoren vielmals abgebildete bindegewebige Fremdkörperriesenzellen.

Ich habe noch bei meinen eigenen Präparaten mit Aufmerksamkeit versucht, ob es mir möglich wäre, eine Entstehung von Riesenzellen durch Verschmelzen der zurückgehenden Epithelelemente (Carcinomzellen) festzustellen; ich muß aber sagen, daß ich gewöhnlich nur gröbere Zusammenklebungen von mehr oder weniger degenerierten Parenchymzellen beobachten konnte, ohne den Eindruck einer wirklichen Riesenzellenbildung zu haben. Es ist trotzdem sicher, daß dies unter besonderen Bedingungen vorkommen kann; abgesehen von den von verschiedenen Autoren bei partieller Heilung menschlicher Carcinome gemachten Beobachtungen, erwähnt Bashford diese Art von Riesenzellenbildung in Mäusecarcinomen, und auch Gaylord und Clowes haben sie beobachtet; ich selbst konnte mich davon in einigen mir zur Verfügung

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

stehenden Präparaten Haalands von Tumor 37 überzeugen; in den zurückgehenden Carcinomteilen in Mischtumoren konnte man Riesenzellen dieser Art von sehr großem Umfang und mit klassischer peripherischer Kernanordnung sehen; Fig. 21 stellt einen Teil einer solchen Riesenzelle dar. Das Vorhandensein aller Uebergangsstufen zwischen den zugrundegehenden Carcinomalveolen und diesen Formationen läßt keinen Zweifel übrig, daß tatsächlich aus verschmolzenen Carcinomzellen Riesenzellen entstehen können.

Was die Lage der Riesenzellen bei spontan heilenden Carcinomen betrifft, so ist zu sagen, daß sie gewöhnlich nicht sehr weit von Parenchymresten zu finden sind. Ihre Zahl kann in verschiedenen Tumoren und in den verschiedenen Resorptionsstadien wechseln; im allgemeinen kommen sie besonders in den letzten Stadien in größeren Mengen vor.

Bei spontan heilenden Tumoren sind noch Blutungen und Gefäßneubildungen erkennbar. Die Anwesenheit von Blutungen wurde schon von Bashford, Murray und Cramer beobachtet; in ihren oben erwähnten Arbeiten beschreiben sie, wie kleine Hämorrhagien an Stellen lokaler, partieller Heilung bei gut wachsenden Carcinomen vorkommen können; sie meinten ferner, daß sie als ein präliminäres Phänomen des Resorptionsprozesses und der Bindegewebswucherung anzunehmen sind. Das Hervortreten von Blutungen wurde später auch von Gaylord und Clowes bemerkt. In meinen Präparaten habe ich auch bei spontan heilenden Tumoren sowie an Stellen lokaler Rückbildung sehr oft dasselbe beobachtet, und ich kann die Beschreibung der oben genannten Autoren im allgemeinen bestätigen. Ich möchte nur hinzufügen, daß Blutungen nicht immer und nicht bei allen Tumoren zu finden sind; in den Jensen Carcinomen z. B. und in Carcinom No. 65 scheinen sie dagegen etwas häufiger vorzukommen. Ferner sind sie ein Phänomen der ersten Heilungsperiode; wenn die Tumoren sehr klein geworden sind und das Reaktionsgewebe eine ziemlich ausgeprägte Organisation erreicht hat, sind die Blutungen sehr selten und können sogar ganz fehlen. Wenn Blutungen vorkommen, so breiteten sich die extravasierten Blutkörperchen ziemlich weit im Gewebe aus; ein Teil derselben löst sich wahrscheinlich an Ort und Stelle

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

auf und die übrigen werden von den Makrophagen aufgenommen.

Die Gefäßneubildung ist ein nicht sehr früh eintretendes Phänomen; Gefäße existieren ja schon im Stroma des Tumors zwischen den Parenchymzellen vor Anfang des Heilungsprozesses. Während der Tumorresorption kommt eine reiche Neubildung von Gefäßen vor. Wenn das Reaktionsgewebe eine gewisse Ausdehnung und Organisation erreicht hat, kann man von den in Fett- und Bindegewebe peripherisch liegenden Gefäßen Sprossen sehen, die allmählich das Reaktionsgewebe durchziehen und sich bis in die tiefen Teile des Tumors erstrecken; wenn der Heilungsprozeß noch weiter fortgeschritten ist, sind zwischen den verschiedenen Reaktionselementen mehrere erweiterte, aus einer einfachen Endothelwand bestehende Kapillaren leicht zu erkennen; sie gehen nach verschiedenen Richtungen hin durch das Reaktionsgewebe und können nur in Serienpräparaten verfolgt werden. Es ist noch zu bemerken, daß in den meisten Fällen diese Kapillaren von Lymphocyten ausgefüllt sind (Fig. 22), eine Tatsache, die nicht ohne Bedeutung für den Reaktionsprozeß sein kann; daß es sich hier um eine zufällige Erscheinung handelt, glaube ich nach der Untersuchung von mehreren Serienpräparaten ausschließen zu können.

Aus dem Obengesagten wird man leicht verstehen, daß das Bild der Spontanheilung wechseln kann und außerordentlich kompliziert ist; nur durch Untersuchung von vielen in Serien geschnittenen Tumoren kann man sich eine genauere Idee davon machen. Und wenn wir nach der analytischen Betrachtung der einzelnen Reaktionsgewebselemente ein Uebersichtsbild des ganzen Spontanheilungsprozesses in seinen Hauptlinien zu gewinnen versuchen, kann dieser Zweck nur durch eine gewisse Schematisierung und teilweise durch Hypothesen erreicht werden.

Aus dem Obenerwähnten über die Bildung des Stromas von vollständig entwickelten Tumoren, und besonders aus der in letzteren Jahren hervorgehobenen Tatsache, daß nur durch die Resorption von noch gewisserweise leben-

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

digen Zellen, resp. von in ihrem Körper enthaltenen Stoffen, die Krebsimmunität entstehen kann, ist es mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß bei der Spontanheilung das erste eintretende Phänomen eine besondere, nicht mit der gewöhnlichen Nekrose zu verwechselnde Degenerationsform einiger oder mehrerer Parenchymelemente ist. Wo die Degeneration eingetreten ist, bildet sich rasch ein Reaktionsgewebe, welches eigentlich aus lymphocytären und plasmazellulären Anhäufungen, sowie aus ausgewanderten Blutkörperchen und spärlichen Makrophagen besteht (Punkte von partieller Heilung). Nach und nach verfallen neue Teile von Parenchym der Degeneration. Vielleicht spielen hier die extravasierten Blutkörperchen im Zusammenhang mit den anderen Elementen (Lymphocyten?) eine sehr wichtige Rolle, indem sie eine Reizung für eine weitere Bindegewebswucherung darstellen können; so bilden sich neue Punkte von lokaler Heilung und das Stroma gewinnt allmählich eine immer größere Ausdehnung. Es besteht nicht nur aus gewöhnlichen Bindegewebselementen (Fibroblasten, Wanderzellen usw.), sondern auch aus einer außerordentlichen Menge von Lymphocyten und Plasmazellen, deren Zahl im Verhältnis zu der vorschreitenden Parenchymdegeneration immer größer wird. Gleichzeitig durchziehen neue Kapillaren das überwuchernde Gewebe, die schon nekrotische Masse wird resorbiert, Riesenzellen bilden sich und die Makrophagen nehmen die verschiedenen Zellenreste phagocytär in ihrem Körper auf; die Mastzellen, welche schon im alten Stroma vorkamen, werden zwischen die proliferierten Elemente eingeschlossen und degenerieren. Der ganze Prozeß hat in dieser Weise seinen Höhepunkt erreicht; der Tumor besteht eigentlich nur aus einigen oder mehreren isolierten Inseln, welche von einem jungen, zellenreichen Reaktionsgewebe umgeben sind. Die Parenchymreste besitzen noch eine gewisse Vitalität und sind noch fähig, sich mitotisch zu teilen, sie scheinen aber nicht mehr imstande zu sein, die starke Reaktion zu überwinden.

Die letzten Stadien sind deutlicher; es handelt sich jetzt nur um die Organisation eines „Caput Mortuum“ und die Tumorheilung nähert sich immer mehr einem gewöhnlichen

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Vernarbungsprozeß. Auch die letzten Parenchymelemente degenerieren und verschwinden. Von den Lymphocyten geht ein Teil, wahrscheinlich an Ort und Stelle, zugrunde, und ihre Reste werden von den Makrophagen aufgenommen; ein anderer Teil bleibt als dauernde Elemente im vernarbten Gewebe; danach zerfallen auch örtlich die Plasmazellen, die Riesenzellen und die Makrophagen; die Fibroblasten bilden im Zusammenhang mit den ruhenden Wanderzellen und den polymorphkernigen Leukocyten ein neues, nicht viel vom normalen verschiedenes Bindegewebe. Der Heilungsprozeß ist zu Ende gekommen.

Ich möchte noch an dieser Stelle hervorheben, daß diesem Bild entsprechende Beispiele aus der menschlichen Pathologie zu finden sind. Ob menschliche maligne Geschwülste, besonders Krebse, vollständig spontan heilen können, ist lange für sehr zweifelhaft gehalten worden; es gibt viele Pathologen und Aerzte, welche alle derartigen Angaben für diagnostische Irrtümer ansehen. Daß solche Fälle, obwohl sehr selten, vorkommen können, ist jedoch sichergestellt worden.

Senger[1]) z. B. hat in zwei Fällen von Epitheliom der Zunge eine vollständige Rückbildung beobachtet, und dasselbe ist in einem Fall von Carcinom der Unterlippe nach Crosbie[2]) vorgekommen; auch Gould[3]) hat über das Spontanverschwinden von sekundärer Krebswucherung berichtet; andere Fälle von Heilung maligner Geschwülste wurden noch von Randolph[4]) und von Laurie Watson[5]) bemerkt. Von großem Interesse ist die Geschichte der Patientin von Rotter[6]); es handelte sich

1) Senger, Zur Frage der Spontanheilbarkeit des Krebses bei Menschen, mit Demonstration. Verhandl. d. Deutsch. Ges. f. Chir., 1894, p. 171.

2) Crosbie, R. P., A sore diagnosed as a Cancer of the Lip in early life. Recovery without operation. Brit. med. Journ., Feb. 11, 1899.

3) Gould, A. P., A case of spontaneous disappearance of secondary cancerous growths. Clinical Societys Transactions, Vol. 30.

4) Randolph, B. M., Case of spontaneous arrest of growth in an endothelioma, with subsequent inflammatory absorption. Proceedings of Path. Soc. of Philadelphia, Vol. 7, No. 4 (zitiert von Gaylord und Clowes).

5) Laurie Watson, A., A case of recurrent Sarcoma with apparently spontaneous cure and gradual shrinking of the tumour. The Lancet, 1902, Vol. 1, p. 300.

6) Rotter, J., Polyposis recti — Adenoma malignum — Spontanheilung. Arch. f. klin. Chir., Vol. 58, 1899, p. 357.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

um ein malignes Adenom des Rectums, und die histologische Diagnose wurde von zwei zu verschiedenen Zeiten entfernten Stücken von Orth gestellt; die am Mastdarm vorhandene Neubildung ging nach und nach zurück, und auch drei Jahre später, als die Patientin an einer Geschwulst am Becken starb, konnte man bei Obduktion nichts am Mastdarm von der Geschwulstbildung nachweisen. Neulich hat Teacher[1]) über die Spontanheilung von sekundären Chorionepitheliomknötchen berichtet; der Verfasser sagt, daß die Heilungsvorgänge durch einen Inkapsulationsprozeß und durch aktive Wucherung von Granulationsgeweben charakterisiert sind. Ueber die Rückbildung des Chorionepithelioms hat ferner Riesel[2]) eine große Literatur gesammelt und ist zu dem Schlusse gekommen, daß eine solche im Bereich der Möglichkeit liegt[3]).

Häufiger als die vollständige Heilung scheinen bei Carcinomen lokale Rückbildungsvorgänge aufzutreten.

Denecke[4]) hat ein verkalktes Epitheliom beschrieben, welches im Verlauf von zwei Jahren sich entwickelt hatte; mit der Verkalkung der Epithelzellen traten Veränderungen im Gewebe auf, wie sie bei der Einheilung und Resorption von Fremdkörpern eine Rolle spielen; kleinere und größere Blutungen fanden sich in der Kapsel und im ganzen Tumor; an der Grenze gegen die verkalkten Zellen war das Gewebe reich an jungen Bindegewebszellen und Riesenzellen. Denecke schreibt die resorbierende Tätigkeit in erster Linie den Leukocyten, dann den Granulationszellen und schließlich auch den Riesenzellen zu. Auch Becker[5]) hat vier Cancroide mit Riesenzellenbildung beschrieben, er kommt zu den folgenden Schlüssen: „Die Riesenzellen an den Perlkugeln der Cancroide haben die Bedeutung von Fremdkörperriesenzellen, können aber auch sich aus epithelialen Elementen bilden; der durch ihr Eintreten eingeleitete Prozeß kann zur völligen Organisation der Perlkugeln führen, stellt also eine Art partieller spontaner Heilung dar, indem an die Stelle von Krebsnestern junges Bindegewebe tritt. Petersen[6]), in seinen Studien über Heilungsvorgänge

---

1) Teacher, J. H., On the development and natural healing of Secondary Tumours of Chorionepithelioma malignum. Journ. of Path. and Bact., 1908, p. 88.

2) Riesel, W., Zur Frage der Malignität und Differentialdiagnose zwischen gutartiger und bösartiger Form der Choriosepithelioms und der Spontanheilung. Ergebn. d. allg. Path. und path. Anat., Bd. 2, 1907, p. 975.

3) Vide darüber auch Foá, Sul Corioepitelioma. Pathologica, Vol. 1, 1909, No. 3.

4) Denecke, Festschrift f. Rudolf Virchow, 1893, zit. v. Schwarz und v. Orth.

5) Becker, Ueber Riesenzellenbildung in Cancroiden. Virch. Arch., Bd. 156, 1899.

6) Petersen, Beiträge zur klin. Chir., Bd. 32, p. 605, Bd. 34, p. 683.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in Carcinomen, sagt, daß sie häufig durch das Auftreten von Riesenzellen von verschiedener Form, Größe und Histiogenese charakterisiert sind. Schwarz[1]) hat auch diese Frage der partiellen Heilung bei Carcinomen in Betracht gezogen; das besonders Interessante dabei ist, daß die Geschwulst erst seit $^1/_4$ Jahr bemerkt worden war und rapid gewachsen sein soll. Der Verf. drückt sich in folgender Weise aus: „Es handelt sich um ein verhältnismäßig schnell wachsendes Epitheliom papillären Charakters, welches einerseits wegen seiner Verhornung den Cancroiden sehr nahe steht, andererseits wegen seiner partiellen Verkalkung den verkalkten Epitheliomen verwandt ist, mit ausgedehnter Organisation, welche auf einem durch entzündliche Vorgänge vorbereiteten Boden in verhältnismäßig kurzer Zeit stattgefunden hat und als partielle Heilung aufzufassen ist'. Der Verf. hat wieder die Anwesenheit zahlreicher Riesenzellen teils bindegewebiger, teils aber auch epithelialer Natur beobachtet. In seinem Vortrage über Heilungsvorgänge an Epitheliomen bespricht Orth[2]) die Beobachtungen seiner Schüler Denecke, Becher und Schwarz; von dem Fall des letzteren legte er außer dem makroskopischen Präparat noch eine Anzahl mikroskopische Schnitte vor. Orth betonte insbesondere die Stärke und Ausdehnung der rückgängigen Veränderungen an den Geschwulststellen, die Bildung von neuen, jungen Bindegewebselementen und eines gefäßhaltigen Granulationsgewebes, ferner die Teilnahme der Riesenzellen an der Zerstörung der verhornten und verkalkten Epithelzellenhaufen. Was die Frage betrifft, „ob bei den geschilderten Veränderungen von Heilungsvorgängen geredet werden durfte", äußerte sich der Vortragende in folgenden Worten: „Ich will gewiß nicht außer Acht lassen, daß an den Stellen, wo die Bindegewebsheilung eintrat, die Geschwulstzellen bereits in rückgängiger Veränderung begriffen waren, selbst wenn Zellen mit noch färbbaren Kernen in das Bereich der Zerstörung hineinbezogen wurden. Die wesentlichen Geschwulstelemente waren also schon nicht mehr leistungsfähig, sie kamen für das Fortschreiten der Geschwulstwucherung kaum noch in Betracht. Immerhin gehörten sie doch noch der Neubildung an, waren noch integrierende Bestandteile derselben, und so wurde mit ihrer Zerstörung doch ein Teil der Neubildung zerstört, es wurde Geschwulstgewebe durch Bindegewebe ersetzt, also kann von einer Art von Heilung gesprochen werden, wenngleich die Vorgänge für das Gesamtverhalten der Geschwulst kaum ernstlich in Betracht kommen."

Von dem Obenerwähnten glaube ich annehmen zu können, daß auch beim Menschen, obwohl sehr selten, Heilungsvorgänge vorkommen und daß dieselben ein Bild bieten, welches im wesentlichen von den

1) Schwarz, Ueber ein Epithelioma papillare. Virch. Arch., Bd. 175, 1904, p. 507.

2) Orth, Ueber Heilungsvorgänge an Epitheliomen nebst allgemeinen Bemerkungen über Epitheliome. Zeitschr. f. Krebsforsch., Bd. 1, Heft 5, 1904, p. 399.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei Rückbildung der Mäusecarcinome hervortretenden Phänomen nicht verschieden ist[1]). Es ist an dieser Stelle noch hervorzuheben, daß auch nach Orth die rückgängigen Veränderungen an den Geschwulststellen die unerläßlichen Vorbedingungen für diese Heilungsvorgänge sind, ferner, daß auch bei den nach der Behandlung mit Radium oder mit Röntgenstrahlen heilenden Carcinomen eine fortschreitende Degeneration der Carcinomepithelien und gleichfolgendes Einwandern von Leukocyten und Eindringen von jungem Bindegewebe beobachtet wurde[2]).

Am Schlusse dieses Absatzes über die Spontanheilung möchte ich noch über eine von mir gemachte Beobachtung berichten. Wie schon früher erwähnt, kann man heutzutage als bekannt annehmen, daß nach der vollständigen Spontanresorption eines Carcinoms die Tiere gegen eine zweite Impfung derselben Geschwulst, und teilweise auch gegen andere Tumoren, resistent, d. h. immun sind. Besonders von Bashford und seinen Mitarbeitern ist oft hervorgehoben worden, daß diese besondere Form von Immunität nicht auf dem Vorhandensein von spezifischen „Antikörpern" im Serum beruhen kann, sondern „als eine aktive erworbene Veränderung, welche die chemotaktische Wirkung der Krebszellen auf die Gewebe (Bindegewebe und Gefäße) des Wirtstieres ändert", aufzufassen ist.

Wir haben gesehen, daß während der Spontanheilung, d. h. während der Resistenzbildung das Krebsstroma, ferner das ganze umliegende Bindegewebe, soweit davon in Präparaten vorhanden ist, sehr ausgeprägte Veränderungen bietet. Es schien mir nun zweckmäßig, zu untersuchen, ob gleichzeitig mit dem Resorptionsprozeß auch in größeren Entfernungen vom Tumor, z. B. auf der anderen Körperseite, Bindegewebsveränderungen festzustellen wären. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: mehrere Mäuse, die mit

---

1) Siehe darüber auch die neulich erschienene Arbeit von G. H. Wells: The resistance of the Human Body to Cancer. The Journ. of the Amer. Med. Assoc., Vol. 52, 1909, No. 2. p. 1731.

2) Vide Perthes, Zur Frage der Röntgentherapie des Carcinoms. Arch. f. klin. Chir., Bd. 74, p. 400, u. a.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Carcinom 32 am selben Tage geimpft worden waren, und bei welchen die Geschwülste in verschiedenen Rückbildungsstadien sich fanden, wurden getötet, die Tumoren herausgenommen und für histologische Zwecke konserviert; gleichzeitig wurden von jedem Tier auf verschiedenen vom Tumor entfernten Körperstellen Stückchen von Fett und Bindegewebe ausgeschnitten und wie die entsprechenden Geschwülste behandelt. Das ganze Material wurde wie gewöhnlich in Serien geschnitten. Die Resultate können sehr kurz zusammengefaßt werden: die Tumoren boten wieder das beschriebene Bild der Spontanheilung; die Untersuchungen des den kleinsten Tumoren entsprechenden Fett- und Bindegewebes blieben negativ. In Bindegewebsstückchen von den Mäusen, welche spontan absorbierende Tumoren von einem gewissen Umfang trugen, wurden hier und dort mehr oder weniger ausgeprägte Plasmazellenanhäufungen beobachtet. Das Fettgewebe erwies sich als am besten geeignet, um diese Veränderung zu verfolgen; wie bekannt, ist das Fettgewebe reich an Gefäßen und tritt besonders in alkoholfixierten Stücken als ein grobes Maschenwerk vor; in den Maschen, im speziellen aber in der Nähe des Gefäße, waren die Plasmazellen manchmal zerstreut, manchmal in kleinen Gruppen zu beobachten; in vielen Fällen konnte man das Bild, welches in Fig. 23 dargestellt ist, bemerken; in anderen handelt es sich um eine wirkliche plasmazelluläre Infiltration der perivaskulären Räume (Fig. 24), wie sie z. B. in den Umgebungen von chronischen und subchronischen entzündlichen Prozessen oder im Gehirn von Paralytikern schon mehrmals von verschiedenen Autoren beobachtet und abgebildet worden ist. Die in Fett- und Bindegewebe während der Spontanheilung auftretenden Plasmazellen tragen die schon beschriebenen Charaktere der alten Plasmazellen. Daß es sich hier um Plasmazellen handelt, geht ohne weiteres aus den Abbildungen hervor. Auch die Möglichkeit, daß solche Elemente schon normalerweise im Subkutangewebe der Tiere vorhanden sein konnten, kann, glaube ich, kaum in Betracht kommen, da ich nie imstande gewesen bin, im normalen Subkutangewebe der Maus Plasmazellen zu finden. Durch die äußeren Charaktere der in Fett- und Bindegewebe

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

gefundenen Plasmazellen, sowie durch die Tatsache, daß sie ausbleiben, wenn die Tumoren fast vollständig resorbiert sind, wäre ich geneigt anzunehmen, daß sie (die Plasmazellen) in einer Zeitperiode, welche ungefähr mit der Entstehung der Krebsimmunität übereinstimmt, an Ort und Stelle zerfallen. Viel schwieriger ist es, zu beurteilen, ob sie sich auch örtlich bilden oder ob ihr Ursprung auf eine Form von Metastase der im Reaktionsgewebe des heilenden Tumors existierenden Plasmazellen zurückzuführen ist. Es wird, glaube ich, leichter sein, eine Antwort auf diese Frage nach der Besprechung einiger anderer Untersuchungen zu geben.

Im Fett- und Bindegewebe von krebsheilenden Tieren glaube ich noch eine Vermehrung der Zahl der Lymphocyten beobachtet zu haben; besonders in der Nähe der Fettgefäße kamen mehrere kleine Lymphocytenanhäufungen vor, welche, meiner Meinung nach, nicht für eine bedeutungslose Erscheinung zu halten sind. Ein sicherer Beweis dafür kann leider nicht gegeben werden, weil Lymphocyten schon normalerweise im lockeren Subkutan- und Fettgewebe vorhanden und Zählungen unmöglich durchzuführen sind.

Krebsübertragungen in Krebsimmunmäusen.

Die Veränderungen der Impfstelle bei krebsimmunen Tieren sind früher von Russell[1]) studiert worden.

Der Verf. hat seine Studien mit den Carcinomen 27, 32 und 50 dieses Laboratoriums, sowie mit dem Jensen-Carcinom ausgeführt. Er bediente sich dabei der schon beschriebenen Frühstadienmethode. Nach Russell sind die Veränderungen auf der Impfstelle bei Krebsimmuntieren während der ersten Tage nicht von denen, welche bei normalen Mäusen vorkommen, zu unterscheiden; eine mehr oder weniger große Menge von polymorphkernigen Leukocyten, und eine gewisse Anzahl von einkernigen Leukocyten wandert in die Implantation hinein und setzt sich besonders in dem mit den Tumorzellen verpflanzten alten Stroma, und da, wo nekrotisches Gewebe vorhanden ist, fest. Nach dem dritten Tage aber bieten die Immuntiere ein ganz anderes Bild; während bei normalen Mäusen das verpflanzte Stück zu wachsen fortfährt und das umliegende Bindegewebe ein neues

1) Russell, B. R. G. The nature of resistance to the Inoculation of Cancer, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Stroma bildet, degenerieren bei immunen Mäusen im Gegenteil allmählich die geimpften Zellen von den zentralen nach den peripherischen Teilen der Implantation und das Wirtstiergewebe läßt fast keine fibroblastische Wucherung erkennen. „Das Bindegewebe des immunisierten Wirtstieres", sagt der Verf., „ist zwar zellreicher als das normale Bindegewebe der Maus, was aber der Anwesenheit von Polyblasten und polymorphkernigen Leukocyten zuzuschreiben ist. Eine deutliche Zunahme des Gefäßreichtums ist nicht vorhanden. Die Resorption der nekrotischen Masse geht sehr langsam vor sich und erst nach 7 Tagen wird sie von einer Anzahl Fibroblasten und Polyblasten durchzogen; 12 bis 14 Tage sind für das vollständige Verschwinden der Implantation nötig. Dies wird leicht verständlich, da eine schnelle Neubildung von neuen Kapillaren nicht geschieht, welche durch ihr Eintreten in die Implantation eine für die rasche Resorption derselben genügend reiche Menge von Phagocyten geben könnten." In den letzten Stadien hat Russell epitheliale Zellen mit mehreren Kernen gefunden, was seiner Meinung nach einer allmählichen, die mitotische Teilung verhindernden Paralyse des Protoplasmas zuzuschreiben wäre.

Für meine eigenen Untersuchungen bediente auch ich mich besonders des Carcinom 27 und derselben von Russell gebrauchten Methode der Frühstadien. Als Immuntiere dienten mir Mäuse, die mit Tumor 27 schon einmal ohne Erfolg geimpft worden waren; um die Resistenz zu verstärken, habe ich noch einmal eine größere Dosis von 0,1 ccm Tumorbrei inokuliert. Die Resultate entsprachen der Russellschen Beschreibung, die ich also in ihren Einzelheiten bestätigen kann. Vergleicht man meine Fig. 25 mit der Russellschen Abbildung 5, p. 350, so wird man sich gleich von der Identität unserer Resultate überzeugen. In der Umgebung der Implantation sieht man nur einige Fibroblasten, deren Konturen etwas besser sichtbar sind, einige spärliche ruhende Wanderzellen, eine ganz kleine Anzahl von polymorphkernigen Leukocyten, von Lymphocyten und Wanderzellen (Maximow, Russell Polyblasten); keine Spur aber der nach Impfungen desselben Carcinoms in normalen Mäusen folgenden fibroblastischen Wucherung (Fig. 7), auch keine Reaktion, welche mit der bei Spontanheilung beobachteten zu vergleichen wäre.

Diesen Bemerkungen möchte ich noch folgendes hinzufügen:

1) Die zentralen Teile der Implantation verfallen in sehr kurzer Zeit (2—3 Tage) der Nekrose, aus Mangel an Vaskularisation; die peripherisch liegenden Epithelialzellen, welche in

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

direkter Beziehung mit dem Wirtstiergewebe sind, bleiben etwas länger am Leben (6—8 Tage), dann degenerieren auch sie und verschwinden. Die verschiedenen Degenerationsstadien dieser Elemente erinnern sehr an die bei Spontanheilung beschriebenen: die Zellen verlieren ihre acinöse Anordnung, verlängern sich in verschiedener Weise (Fig. 25a), lassen in ihrem Protoplasma eine Art von Vakuolisierung (Fig. 25c) bemerken, und die Kerne erscheinen sehr oft als chromatinlos (Fig. 25b). Nach und nach verlieren Zelleib und Kern ihre eigentliche Färbung und Struktur. Eine gewisse Zeitlang können sie trotzdem erkannt werden; endlich aber zerfallen sie und verschwinden.

Nach dem schon über die Resistenzherstellung nach der Spontanheilung Erwähnten, sowie nach den allgemeinen Kenntnissen über Krebsimmunität, ferner in Uebereinstimmung mit der Krebsimmunisierungsmethode selbst ist es anzunehmen, daß die in Immuntieren langsam degenerierenden Zellen die Immunität selbst verstärken.

2) Wenn die Mäuse nicht hochimmun sind, wächst der Tumor während einigen Tagen (4—6); er verschwindet dann allmählich und bietet ein Bild dar, welches, obwohl in kleinerem Maßstabe, etwas an das der Spontanheilung erinnert.

3) Die schon in den ersten Stunden in die Implantation eingewanderten polymorphkernigen Lymphocyten zerfallen an Ort und Stelle, wie bei normalen Mäusen; auch nach 4—6 Tagen kann man noch ihre sehr deformierten Kerne erkennen.

4) Mit dem Ausbleiben der Gefäßneubildung fehlen bei Immuntieren auch die Makrophagen, nur in der letzten Zeitperiode, 10—14 Tage nach der Impfung, kann man ziemlich weit von der Impfstelle einige seltene, zweifelhafte Exemplare finden.

5) Bei Immuntieren bemerkt man fast keine lymphocytäre Infiltration; mit den Lymphocyten bleiben auch die Plasmazellen aus; einige spärliche Beispiele kommen nur in den erwähnten Fällen (vide No. 2) von mangelhafter Immunisierung vor.

6) Auch Blutungen sind bei den Immuntieren nicht zu beobachten; es fehlen auch dementsprechend die eosinophilen Leukocyten.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

7) Fremdkörperriesenzellen sind nur in den letzten Stadien und als eine wirkliche Seltenheit vorhanden; epitheliale Riesenzellen bilden sich manchmal durch Verschmelzen der degenerierten Carcinomelemente; ob dabei auch die Amitose eine Rolle spielt, kann ich, nach meinen Präparaten, nicht entscheiden.

8) Im Fett- und Subkutangewebe von Immuntieren treten während des ganzen Resorptionsprozesses keine morphologischen Veränderungen hervor; alle Versuche Plasmazellen, wie bei der Spontanheilung, in großen Entfernungen von der Impfstelle zu finden, sind immer negativ geblieben.

Weitere Versuche über die Bildung der Krebsimmunität.

Ehe ich die Beschreibung der folgenden experimentellen Untersuchungen anfange, möchte ich einige allgemeine Bemerkungen über die Krebsimmunitätbildung bei Mäusen vorausschicken. Schon von den Beobachtungen, über welche ich auf den vorigen Seiten berichtet habe, konnte man zu der allgemeinen Schlußfolgerung kommen, daß die Herstellung der Immunität in irgendeiner Weise mit einer besonderen, lokalen und allgemeinen Gewebsreaktion eng verbunden sei. Die Resultate der analytischen Betrachtung des Spontanheilungsphänomens sprechen sehr deutlich für eine solche Annahme: daß die Spontanresorption von Geschwülsten nichts anderes als eine Fremdkörperreaktion darstellt, ist dagegen nicht haltbar. Die Einführung von einem gewöhnlichen Fremdkörper ins Subkutangewebe (Glaskammer, Celloidinröhrchen usw.), selbstverständlich unter aseptischen Bedingungen, ruft, so weit aus der Beschreibung der Autoren, welche darüber gearbeitet haben, zu urteilen ist, keine so stark ausgeprägte lymphocytäre Infiltration hervor; ferner hat Maximow in seinen Untersuchungen über die entzündliche Bindegewebsneubildung bei weißen Ratten, deren normales Bindegewebe, wie schon erwähnt, nicht von dem der Maus verschieden ist, nie Plasmazellen beobachtet. Andererseits hat kein Verfasser bis jetzt,

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

meines Wissens, während der lokalen, durch einen Fremdkörper hervorgerufenen entzündlichen Bindegewebsneubildung Plasmazellen im übrigen Fett- und Subkutangewebe bemerkt. Will man hier von Fremdkörpern sprechen, so handelt es sich in jedem Falle um einen Fremdkörper „sui generis". Auch die Implantation eines sich gut entwickelnden Tumors oder ein vollständig entwickeltes Carcinom sind vom mechanischen Standpunkt aus Fremdkörper, aber in diesen letzten Fällen tritt keine Reaktion hervor, welche mit der der Spontanheilung zu vergleichen ist; wenn etwas ähnliches vorkommt, ist es immer an Stellen, welche als Punkte von partieller Heilung sich erweisen.

Die Vergleichung der bei spontan heilenden und bei sich gut entwickelnden Carcinomen eintretenden Phänomene ist noch von großem Interesse, indem wir auf solche Weise eine Idee davon erhalten können, was für Elemente bei der Entstehung der Krebsimmunität eine besondere Rolle spielen. Tatsächlich sind nur die sehr starke leukocytäre und plasmazelluläre Infiltration, und vielleicht auch die Makrophagen in Betracht zu ziehen; die anderen Bindegewebselemente scheinen keinen großen Anteil dabei zu haben; eine fibroblastische Reaktion, wie schon früher Bashford, Murray und Cramer und neulich Russell beobachtet haben, und wie ich auf Grund meiner eigenen Versuche bestätigen konnte, ist besonders bei den Frühstadien von Tumoren, die mit Erfolg verpflanzt werden, ausgeprägt (vide Fig. 7); polymorphkernige Leukocyten kommen in größerer Menge in den oben erwähnten Fällen als bei Spontanheilung vor; die anderen Bindegewebselemente (ruhende Wanderzellen usw.) sind speziell, wo es sich um einen Vernarbungsprozeß handelt, vorhanden. Endlich sind die Riesenzellen teils als Fremdkörperriesenzellen, teils als Degenerationserscheinungen von zerfallenen Epithelien zu betrachten.

Das Ausbleiben von irgendeiner Reaktion bei Immuntieren ist von unserem Gesichtspunkte aus von großem Wert. Hier kommt keine fibroblastische Wucherung und keine lymphocytäre oder plasmazelluläre Infiltration vor, ferner bilden sich neue Gefäße auch nicht; dies alles scheint mir auf eine präexistierende Veränderung des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bindegewebes zurückzuführen. Es ist ja nicht möglich, zu behaupten, daß die in Immuntiere geimpften Zellen in irgendeiner Weise von den in Normalmäuse verpflanzten, verschieden seien; in Immun- und Normalmäuse impft man tatsächlich Gruppen von Zellen, die ganz nahe in einem und demselben Tumor liegen. Eine Veränderung der Epithelelemente tritt später ein, wenn sie eine gewisse Zeitlang in dem Wirtstiergewebe geblieben sind; es kann nicht ausgeschlossen werden, obwohl niemand es bis jetzt demonstriert hat, daß die Körpersäfte hierbei eine Rolle spielen.

Wir werden vorläufig bei der Annahme bleiben, daß durch die Immunisierungsmethoden besondere Veränderungen des Bindegewebes — Bindegewebe im weitesten Sinne des Wortes genommen — hervorgerufen werden. Wenn wir durch die Immunisierung nur die natürlichen Kräfte der Tiere erhöht hätten, würden wir in den Umgebungen der neuen Implantation eine noch stärkere Reaktion als bei normalen Mäusen finden; dagegen bieten die Immuntiere keine Bindegewebsreaktion, und sie benehmen sich, als ob die Implantation statt eines Fremdkörpers ein normaler Teil — sit venia verbo — ihres Körpers wäre. Nur in den letzten Stadien, wenn gewöhnlich die geimpften Carcinomzellen schon lange verschwunden sind, bemerkt man eine gewisse Bindegewebswucherung, ein Prozeß, der aber nicht von einer gewöhnlichen natürlichen Vernarbung zu unterscheiden ist.

Gegen diese Vermutungen war es immer möglich einzuwenden, daß ein spontan heilendes Carcinom im Vergleich mit den in normalen oder Immuntieren geimpften Bruchstückchen ein, auch nur vom mechanischen Standpunkt aus, übermäßiger Fremdkörper ist, und daß in den einzelnen Fällen die Reaktionsverschiedenheiten, Größen- resp. Dosenverschiedenheiten zuzuschreiben sind; ferner daß die leukocytäre und plasmacelluläre Reaktion nicht mit der Immunitätsbildung, sondern mit der Resorption einer großen Menge von degeneriertem Material verbunden ist. Es schien mir also notwendig, die gemachten Beobachtungen einer möglichst genauen Kontrolle zu unterwerfen. Dafür habe ich noch einige experimentelle Untersuchungen angestellt, über deren Resultate ich jetzt berichten werde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

A. Impfung abgetöteter Carcinomzellen [1]).

Auf den vorigen Seiten habe ich schon erwähnt, daß die in den letzten Jahren gemachten experimentellen Versuche über Krebsimmunität gezeigt haben, daß Impfungen abgetöteten Materials nicht fähig sind, die Tiere gegen Krebs zu schützen; Krebsimmunität im allgemeinen folgt nur auf Impfungen von lebendigen Elementen (Carcinomzellen, Blutkörperchen usw.). Da die Immunitätsbildung im Zusammenhang mit dem Auftreten besonderer Elemente im Reaktionsgewebe zu stehen scheint, sollte man erwarten, daß bei Impfungen von abgetötetem Material solche Elemente, mindestens größtenteils, ausbleiben. In diesem Institut ist besonders von Haaland gezeigt worden, daß Impfung mit in gefrorenem Zustande zerriebenen Tumorzellen keine Immunität hervorruft, und um die eben erwähnten Experimente auszuführen, habe ich mich dieser Methode bedient. Die gesunden Teile mehrerer Tumoren desselben Carcinomstammes (No. 63) und derselben Generation wurden gefroren und zerrieben. Mit dem so bereiteten Brei wurden drei Serien von je 20 Mäusen geimpft; die Tiere der ersten Reihe bekamen eine kleine Dosis (0,01 ccm), die Tiere der zweiten und dritten 10mal diese Menge (0,1 ccm). Die Mäuse der ersten und zweiten Serie wurden in regelmäßigen Zeiträumen von 24 Stunden bis 19 Tagen getötet; gleichzeitig wurden von jedem Tier Stücke von Fett- und Subkutangewebe herausgeschnitten; die entfernte kleine Masse des abgetöteten Materials und die Bindegewebsstückchen wurde in derselben Flüssigkeit konserviert. Die Mäuse der letzten Reihe aber wurden als Kontrolle bewahrt und nach 15 Tagen, d. h., als von dem inokulierten Material gar nichts mehr zu

1) Ueber die Reaktion, welche Impfungen von abgetöteten Tumorzellen folgt, wurde, glaube ich, bis jetzt keine histologische Untersuchung gemacht. An dieser Stelle ist eine Arbeit von Zancarini (Giornale R. Acc. Torino, Anno 71, Luglio-Agosto, 1908) zu erwähnen. Der Verf. ist auf Grund vergleichender Untersuchungen über die Reaktion nach subkutanen Greffen von lebendigen und erwärmten Geweben zu der Schlußfolgerung gekommen, daß die entzündliche Reaktion viel schwächer ist nach Verpflanzungen von erwärmten als nach denen von entsprechenden lebendigen Geweben. Die Reaktionsverschiedenheiten waren viel mehr ausgeprägt, wenn die Gewebe bis 70° erwärmt worden waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fühlen möglich war, mit demselben Carcinom (Hohlnadelmethode) wieder geimpft. Ueber die Frühstadien des Tumors No. 63 bei so behandelten Tieren habe ich schon oben berichtet.

Was die Bindegewebsstückchen betrifft, kann ich gleich an dieser Stelle sagen, daß sie keine Veränderung bemerken ließen; Plasmazellenanhäufungen, wie ich sie im Fett- und Bindegewebe des übrigen Körpers bei Spontanheilung beschrieben habe, waren nicht erkennbar.

Die histologische Untersuchung des geimpften abgetöteten Materials und des umliegenden Bindegewebes bot in den beiden Serien dieselben Bilder; nur kam in den mit der kleineren Dosis inokulierten Tieren der ganze Prozeß in kürzester Zeit zu Ende.

Das zuerst eintretende Phänomen war auch hier die Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten; in Präparaten der nach 24 Stunden herausgenommenen Implantation infiltrierten sie die ganze nekrotische Masse, sowie das umliegende Fett- und Bindegewebe; Lymphocyten waren nur in spärlicher Anzahl zu finden; im Gewebe selbst bemerkte man noch, daß die Fibroblastenkonturen viel leichter erkennbar geworden waren; keine Veränderung der übrigen Bindegewebselemente, keine Spur von Plasmazellen; Makrophagen und Riesenzellen waren nicht sichtbar.

Die Präparate des zweiten Tages boten ein ganz merkwürdiges Bild; während das Protoplasma der in der nekrotischen Masse vorher beobachteten polymorphkernigen Leukocyten sich fast nicht mehr erkennen ließ, und ihr Kern in der verschiedensten Weise sich deformiert und verändert hatte, waren die Fibroblasten rings um das nekrotische Gewebe in außerordentlicher Menge gewuchert, so daß sie eine breite Zone zwischen demselben und dem gesunden Gewebe bildeten. Die Fig. 26 kann eine ziemlich genaues Bild dieses interessanten Phänomens geben; auf einer Seite (*a*) kann man die nekrotische Masse mit den deformierten Kernen der polynukleären Leukocyten wohl erkennen; auf der anderen (*b*) ist das Reaktionsgewebe abgebildet; der Hauptbestandteil des letzteren sind Fibroblasten, welche als isolierte Elemente her-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vortreten; ihr Kern ist stärker als gewöhnlich gefärbt und im Kerninnern befinden sich zwei oder mehr stark tingierte Nukleolen; in den Präparaten habe ich viele Zellen in Mitose begriffen gefunden; der Zelleib war sehr scharf konturiert und seine netzige Struktur leichter als normalerweise erkennbar; derselbe hatte ein sehr mannigfaltiges Aussehen — rundlich, länglich, sternförmig, ganz unregelmäßig — angenommen. Zwischen den Fibroblasten konnte man eine gewisse Anzahl von ruhenden Wanderzellen, von polymorphkernigen Leukocyten und einige spärliche Lymphocyten erkennen.

Hier und dort in denselben Schnitten habe ich noch eine kleine Menge von sehr interessanten Elementen gefunden (Fig. 27). Ihr Kern besaß keine deutliche Struktur und in dem unregelmäßig geformten Protoplasma waren einige metachromatisch rot oder blauviolett gefärbte Körnchen enthalten. Diese Zellen machten, besonders wegen der Eigenschaften des Kernes, auf mich den Eindruck degenerierter Elemente. Was sie eigentlich sein können, möchte ich jetzt nicht weiter erörtern; ich werde aber Gelegenheit haben, später darauf wieder zurückzukommen.

Ich möchte hier noch hinzufügen, daß ich in den jetzt in Betracht gezogenen Präparaten weder Plasmazellen, noch Makrophagen oder Riesenzellen gefunden habe. Mastzellen waren in einer gewissen Entfernung von der Reaktionsstelle als nicht veränderte Elemente zu sehen.

Nach dem zweiten Tage verlor das Bild nach und nach diese fast schematische Anordnung und Schönheit; man konnte zwar nicht verfolgen, ob die Fibroblasten in die nekrotische Masse hineintraten oder umgekehrt ob die Masse selbst etwa flüssig geworden, das Gewebe infiltriert hatte.

Auch die Zahl der polymorphkernigen Leukocyten verminderte sich von einem Tag zum andern, sie blieben nur etwas länger wo zufällig kleine, nicht gut zerriebene degenerierte Bindegewebsstücken vom Stroma des gebrauchten Tumors noch vorhanden waren. Die Fibroblasten im Zusammenhang mit den ruhenden Wanderzellen bildeten allmählich ein Vernarbungsgewebe, dessen Eigenschaften nicht verschieden von dem gewöhnlichen Fremdkörperheilungsprozeß waren. Die als metachromatisch färbbaren Granula be-

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

schriebenen Elemente habe ich nicht mehr nach dem zweiten Tage gefunden. Makrophagen habe ich nur in einem Falle (16 Tage nach der Impfung) gesehen, bei welchem ein sehr grobes Stück von altem Bindegewebe in der Mitte der Narbe geblieben war; Riesenzellen sind in meinen Präparaten nicht vorhanden gewesen.

Plasmazellen habe ich wie am zweiten Tage auch in anderen verschiedenen Zeitperioden erfolglos gesucht; ich habe nur einige in demselben Falle, bei welchem die Makrophagen vorhanden waren, 16 Tage nach der Impfung, gefunden. Bei drei anderen Mäusen, am selben Tage getötet, war die Impfstelle kaum erkennbar und die mikroskopische Untersuchung ließ keine Plasmazellen beobachten. Die Erklärung dieser Verschiedenheiten wird uns gegeben durch das oben erwähnte Bindegewebsstückchen, das in der Narbe sich befand; wegen seiner Härte, infolge deren es einer $1^1/_2$-stündigen Zerreibung widerstanden hatte, war es als fester Fremdkörper im Gewebe geblieben; in seiner nächsten Umgebung waren mehrere polymorphkernige Leukocyten vorhanden und das Bindegewebe hatte rings um eine Kapsel gebildet in der die Plasmazellen vorkamen. Mit anderen Worten, das geimpfte Material hatte sich teilweise in einen schwer resorbierbaren Fremdkörper verwandelt, welcher einen chronischen entzündlichen Bindegewebsprozeß hervorgerufen hatte, mit Bildern, welche nicht wesentlich von den z. B. von Maximow gegebenen, verschieden waren. Ich halte also diesen Fall für sehr lehrreich, da er uns zeigt, daß tatsächlich die Heilungsreaktion eines Tumors und der Resorptionsprozeß eines abgetöteten Materials nicht mit der entzündlichen, von einem Fremdkörper verursachten Bindegewebsneubildung zu vergleichen und zu verwechseln sind.

Was die Lymphocyten betrifft, ist hier zu erwähnen, daß schon von der ersten Zeitperiode an ihre Zahl in dem die nekrotische Masse umgebenden Bindegewebe und auch in dem etwas mehr entfernten Fettgewebe etwas größer als normal zu sein scheint; es handelt sich aber in jedem Fall nur um eine ganz kleine Verschiedenheit. In den folgenden Tagen kam keine weitere Vermehrung vor, und als der Prozeß sich allmählich einer Vernarbung näherte, änderte sich ein Teil

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

von den wenigen vorhandenen Lymphocyten in Wanderzellen um, um an der Vernarbung selbst teilzunehmen; die anderen schienen als dauernde Elemente im Gewebe zu bleiben, was jedoch sehr schwer festzustellen ist, weil in der letzten Zeitperiode die Impfstelle kaum erkennbar ist. Ich will nur noch hervorheben, daß in jedem Fall diese kleine Vermehrung der Lymphocyten sehr weit hinter der bei Spontanheilung gesehenen bleibt. Das Charakteristische der nach Impfung von abgetötetem Material folgenden Reaktion ist die Fibroblastenvermehrung.

B. Uebertragung von Spontancarcinomen.

Bei den Versuchen von Jensen, Borrel, Bashford, Ehrlich u. a. ist sehr oft hervorgehoben worden, daß Spontantumoren der Maus sich am Anfang nur mit großen Schwierigkeiten übertragen lassen; in den meisten geimpften Tieren wachsen die verpflanzten Zellen während einer gewissen Zeit, degenerieren dann aber allmählich und verschwinden; wenn die erste Impfung erfolglos blieb und die Implantation sich resorbiert hatte, wird die Resistenz der Tiere gesteigert, so daß sie gegen eine zweite Impfung gewissermaßen immun sind.

Ich dachte, es sei hiermit möglich, das Bild der Spontanheilung experimentell zu wiederholen und in seinen verschiedenen Stadien genauer zu studieren. Ich habe Gelegenheit gehabt, mit zwei Tumoren (No. 207 und 285) das oben erwähnte Experiment durchzuführen. Tumor No. 207 war ein Adenocarcinom der Mamma mit sehr ausgeprägter acinöser Struktur und einem ziemlich reichen Stroma; Tumor No. 285 war eines der sogenannten hämorrhagischen Adenocarcinome, ebenfalls von der Mamma ausgegangen. Mit beiden Tumoren wurden je zwei Serien von je 20 Mäusen geimpft, also zusammen 80 Tiere. In die Mäuse der zwei ersten Serien wurden mit der Hohlnadelmethode kleine Bruchstückchen des Tumors verpflanzt; die Mäuse der zwei anderen Serien wurden mit 0,05 ccm eines mit der Fleischmaschine bereiteten Breies inokuliert. Leider sind einige von den mit Tumor 207 geimpften Mäusen zufällig infiziert worden; die ganze Serie ist infolgedessen als wertlos zu betrachten. Ich will nur erwähnen, daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

es mir möglich gewesen ist, in den nicht infizierten Mäusen festzustellen, daß der Resorptionsprozeß wie bei den mit Tumor 285 inokulierten Mäusen vor sich gegangen war.

Was die Tiere der zwei anderen Serien betrifft, möchte ich, bevor ich die Beschreibung meiner Beobachtungen kurz zusammenfasse, noch folgendes hervorheben. Die Hohlnadelmethode ist für diese Art Versuche mehr zu empfehlen als die Spritzenmethode; man hat mit der ersteren den Vorteil, nicht nur fast intakte und gesunde Parenchymelemente zu transplantieren, es ist aber auch gar nicht schwer, mit einer Zupfnadel und der Spitze der Hohlnadel selbst die Tumorstückchen von den gröberen Bindegewebsteilen zu befreien, im Gegenteil, der mit der Fleischmaschine bereitete Brei enthält sehr oft harte Bindegewebsstücke des Tumorstroma, welche, später in der Implantation als wirkliche Fremdkörper tagelang bleiben, und zusammen mit zufällig überimpftem nekrotischen Gewebe das histologische Bild komplizieren.

Die großen Dosen sind ferner nicht imstande, den Charakter der Reaktion zu ändern; die zentral liegenden Parenchymelemente der Implantation, welche nicht in direkter Berührung mit den Wirtstiergeweben, d. h. mit den organischen Säften, sind, sterben aus Nahrungsmangel in einigen Stunden und bilden zusammen mit den überimpften nekrotischen Teilen eine gestorbene Masse, die gar keine lymphocytäre Reaktion hervorruft. Dagegen kommen in der Nähe des zerfallenen Gewebes dieselben Phänomene vor, welche ich im vorigen Absatz beschrieben habe; tatsächlich schon nach 24 Stunden, besser aber nach 2 Tagen, kann man in den Präparaten große Fibroblasten beobachten, welche entweder isoliert oder rings um die nekrotische Masse liegen, manchmal auch gesetzmäßig geordnet und miteinander verbunden, dieselbe für lange Strecken durchziehen; die nicht zerfallenen Teile des verpflanzten Parenchyms existeren als isolierte Knötchen ziemlich weit von der zentralen nekrotischen Masse im gesunden Fett- und Subkutangewebe des Wirtstieres, welches rings um die einzelne Carcinomzellenimplantation eine Reaktion darbietet, die von der bei mit der Hohlnadel geimpften Bruchstückchen eintretenden nicht zu unterscheiden ist. Um Wiederholungen zu vermeiden, werde ich mich auf

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

die Beschreibung der bei letzteren vorkommenden Phänomene beschränken.

Dieselben fangen wieder mit der Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten an, welche nach 48 Stunden zum großen Teil zerfallen; an ihren Platz tritt eine große Menge von Lymphocyten, deren Zahl in den nächsten 3—4 Tagen etwas größer wird. Gleichzeitig degenerieren die epithelialen Elemente und zeigen dabei Eigenschaften, welche mit den schon von mir bei Spontanheilung beschriebenen identisch sind; ungefähr am fünften Tage sind die Parenchymreste fast vollständig verschwunden, und das Reaktionsgewebe ist von neugebildeten, Lymphocyten enthaltenden Gefäßen durchzogen; zwischen den lymphocytären Anhäufungen sind noch zu dieser Zeitperiode mehrere Plasmazellen bemerkbar. In den folgenden Tagen (6—8), sobald nichts mehr von den Carcinomzellen zu finden ist, fängt die Vernarbung an: teils zerfallen die Lymphocyten an Ort und Stelle, teils bleiben sie als dauernde Elemente im neu sich bildenden Bindegewebe, teils endlich verschwinden sie, ohne daß man merkt, wie dies vor sich gegangen ist; die Plasmazellen degenerieren auch örtlich, die anderen Elemente (Fibroblasten, ruhende Wanderzellen etc.) bilden die Narbe selbst. Ungefähr am zehnten Tage ist die Impfstelle nicht mehr erkennbar.

Ich habe oben die Makrophagen absichtlich nicht erwähnt; bei hämorrhagischen Tumoren schienen sie sich auf eine von der gewöhnlichen etwas verschiedenen Weise zu verhalten; schon in Präparaten der ersten 24 Stunden kann man einige an der Peripherie der geimpften Bruchstückchen, wo sie in direkter Beziehung zu dem Wirtstiergewebe sind, finden; nach 48 Stunden ist ihre Zahl viel größer geworden; was mir aber sehr lehrreich scheint, ist, daß sie in diesen früheren Perioden ausschließlich nur da, wo Blutkörperchen, resp. Blutkörperchenreste, vorhanden sind, liegen. Nachher, wenn die neuen Kapillaren das Reaktionsgewebe durchzogen haben, treten die Makrophagen bis in die tieferen Teile der Implantation hinein, und nehmen die Parenchymreste auf. Dieses frühzeitige Vorkommen der Makrophagen ist, meiner Meinung nach, etwas Charakteristisches für die Uebertragung eines hämorrhagischen Carcinoms; man impft ja zusammen mit den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Epithelelementen eine ziemlich große Menge von Blutkörperchen, welche als lebendige Elemente eine eigene positive, chemotaktische Reizung auf das Gewebe ausüben können. Wenn die Implantation erfolglos blieb und sehr schnell zugrunde ging, wie in meinen Fällen, so sind besonders Makrophagen angelockt; wenn im Gegenteil, wie z. B. in den von Russell untersuchten Frühstadien des hämorrhagischen Carcinoms 50 der Fall war, der Tumor sich entwickelt, so bietet das Wirtstiergewebe eine besonders ausgeprägte, angioblastische Reaktion dar. Die Uebertragung einer großen Dosis von einem aus dem hämorrhagischen Carcinom bereiteten Brei gibt uns eine noch eklatantere Demonstration der eben ausgesprochenen Annahme; man impft ja in diesen Fällen eine viel größere Menge von Blutkörperchen, und die Zahl der Makrophagen ist dementsprechend in den ersten 24 Stunden viel größer. Es ist nur zu bemerken, daß an der Phagocytose des Blutes, besonders am Anfang der Resorption, auch die Lymphocyten teil nehmen.

Auch hier, wie bei der Spontanheilung, findet man während des Resorptionprozesses, in Serienpräparaten von in großen Entfernungen von der Impfstelle ausgeschnittenen Bindegewebsstückchen, kleine Plasmazellenhaufen; die beste Zeitperiode, einen solchen Versuch zu machen, ist ungefähr am 7.—9. Tage nach der Impfung; in früheren Perioden und nach dem 10. Tage habe ich gar keine Plasmazellen beobachtet.

C. Impfung von fremdartigen Carcinomen auf Mäuse.

Versuche, Tumoren von Tieren einer bestimmten Art in Tiere einer anderen Art zu übertragen, wurden schon von verschiedenen Autoren angestellt, die Resultase sind aber immer ungünstig gewesen; entweder wachsen die Geschwülste nicht, oder, wie es Ehrlich für Mäusecarcinome in Ratten festgestellt hat, entwickeln sie sich für einige Tage und gehen dann allmählich zurück und verschwinden. Nach einer ersten Impfung erwiesen sich solche Tiere gegen eine zweite Impfung derselben fremdartigen Geschwülste resistent, resp. immun.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es schien mir wichtig, nochmals ein solches Experiment auszuführen, um zu sehen, ob bei dem Zurückgehen des fremdartigen Tumors wieder eine sehr stark ausgeprägte Reaktion vorkam, ferner, ob bei auf diese Weise immunisierten Tieren die Reaktion selbst gegen spätere Impfung ausblieb.

Experimentelle Untersuchungen nach dieser Richtung hin wurden schon von Russell angestellt, indem er Bruchstückchen des von ihm gebrauchten Tumors 27 in normale und in mit demselben Tumor immunisierte Ratten verpflanzt hat. Nach Russell bieten die Frühstadien von Carcinom 27 bei normalen Ratten Bilder, die ähnlich den entsprechenden von Mäusen sind. „Das Rattenbindegewebe", sagt der Verf., „wuchert und bildet ein neues Stroma sowie neue Gefäße für den wachsenden Tumor". Wenn irgendeine Verschiedenheit zu finden war, bestand sie in einer rascheren Vaskularisierung und in einer stärkeren Reaktion seitens der Wirtstierelemente. Bei Immuntieren gingen im Gegenteil alle Elemente sehr rasch zugrunde; „am vierten Tage waren keine gesunden Elemente der eingetragenen Implantation erkennbar, aber eine starke Einwanderung von Polyblasten und Fibroblasten aus dem Wirtstiergewebe, und in den letzten Stadien schreitet die Auflösung der Parenchymreste sehr rasch vorwärts."

Für meine eigenen Experimente bediente ich mich des Flexnerschen Rattencarcinoms; in zwei Serien von je 20 Mäusen wurden mit der Hohlnadelmethode kleine Bruchstückchen des ebengenannten Tumors verpflanzt; dazu brauchte ich eine Hohlnadel von sehr kleinem Durchmesser; die Dosis war dementsprechend sehr klein (0,001—0,002 ccm). Die Mäuse der ersten Serie wurden zwischen 20 Stunden und 19 Tagen in regelmäßigen Zeitintervallen getötet und die Impfstelle histologisch studiert. Gleichzeitig wurden auch, wie bei Spontanheilung, das Fett- und Bindegewebe der einzelnen Mäuse untersucht. An den Mäusen der zweiten Serie wurde nach 18 Tagen eine zweite Impfung von Flexnerschem Carcinom gemacht; in diesem Falle aber bediente ich mich einer Hohlnadel von größerem Durchmesser, die entsprechende Dosis war also in Vergleich mit der früher gebrauchten mehr als doppelt (0,005—0,006). Die Resultate dieser Untersuchungsreihen können wie folgt zusammengefaßt werden.

I. Normaltiere.

1) Die Parenchymzellen wachsen in Mäusen während einiger Tage, 6—7 (Fig. 28), degenerieren dann allmählich unter denselben Erscheinungen, welche ich in einem der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

früheren Absätze über Spontanheilung beschrieben habe. Ungefähr am 12. Tage ist es nicht mehr möglich, Parenchymreste zu finden. Das Wirstiergewebe bildet kein neues Stroma für die verpflanzten Zellen deren normale, acinöse Anordnung geht verloren. Das alte, mit den Bruchstückchen verpflanzte Stroma geht sehr schnell zugrunde.

2) Das erste Phänomen seitens der Wirtstiere ist immer die Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten. Sehr früh aber, schon nach 48 Stunden, nehmen die Lymphocyten ihren Platz ein. Die Zahl derselben wird in den folgenden Zeiträumen immer größer, so daß am 7. Tage rings um die Parenchymzellen sich ein stark ausgeprägtes Reaktionsgewebe bildet, dessen Ausdehnung zweimal so groß als der Tumor selbst ist (Fig. 28). Dieses Reaktionsgewebe enthält eine große Menge von Kapillaren, die auch von Lymphocyten gefüllt sind, wie wir schon bei der Spontanheilung gesehen haben (Fig. 22). Von dem 7. Tage an findet man noch zwischen den Lymphocyten eine gewisse Zahl von Plasmazellen, welche aber besonders an der Peripherie des Gewebes selbst liegen.

Wenn die Parenchymzellen zugrunde gegangen sind, vermindert sich allmählich die Zahl der Lymphocyten; diese Verminderung aber geht sehr langsam vor sich, so daß z. B. vom 12. Tage an die Impfstelle als ein kleines Lymphknötchen erscheint. Man kann sich nur durch Serienpräparate überzeugen, daß es sich tatsächlich um Reaktionsgewebe handelt, wie die Anwesenheit einiger spärlich degenerierender, in der Mitte der Impfstelle liegender Parenchymzellen erweisen läßt. Auch in dieser Art Experimente bleibt es sehr dunkel, auf welchem Weg am Ende des Prozesses diese außerordentliche Menge von Lymphocyten verschwindet; tatsächlich degeneriert nur eine gewisse Zahl an Ort und Stelle, und nur wenige bleiben als dauernde Elemente in der Narbe.

Die Plasmazellen scheinen örtlich zu zerfallen, und schon am 15. Tage ist es sehr schwer, noch einige spärliche Exemplare zu erkennen.

3) Rote Blutkörperchen und eosinophile Leukocyten habe ich in diesen Experimenten nicht beobachtet.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

4) Alle die anderen Elemente (Makrophagen, Riesenzellen, Fibroblasten usw.) verhalten sich wie bei der Spontanheilung.

5) Ungefähr vom 9. Tage an sind im Subkutan- und Fettgewebe in sehr großen Entfernungen von der Impfstelle, z. B. an der anderen Körperseite, Plasmazellenanhäufungen zu beobachten, wie wir schon bei Spontanheilung gesehen haben. Im Gegenteil zu letzterer treten bei Impfungen von fremdartigen Carcinomen die Plasmazellen als junge, gut definierte Elemente auf, und lassen kein Zeichen von Vakuolisierung oder andere Degenerationserscheinungen bemerken (Fig. 30). Auf Grund dieser Beobachtung wäre ich geneigt, zu denken, daß diese Plasmazellen örtlich entstehen. In den nächsten Zeiträumen findet man tatsächlich Plasmazellen, die mehr oder weniger degeneriert erscheinen. Nach dem 15. Tage ist die Untersuchung auf Plasmazellen immer negativ geblieben.

Immuntiere.

1) Die Parenchymzellen gehen bei Immuntieren viel rascher als bei normalen zugrunde. Die Degeneration geht in den zentralen wie auch in den peripherischen Teilen der Implantation vor, so daß, trotz der zweifach größeren gebrauchten Dosis, nur einige Carcinomelemente 4 Tage nach der Impfung noch zu finden sind; dann verschwinden sie auch, so daß am 9. Tage der ganze Prozeß zu Ende ist.

2) Auch hier, wie bei allen anderen Experimenten, ist die Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten seitens der Wirtstiere das erste eintretende Phänomen. Im Gegensatz zu den normalen Tieren aber bleiben sie in der Implantation, solange Parenchymzellen vorhanden sind. In Präparaten, z. B. von 4 Tagen, hat man unter kleiner Vergrößerung den Eindruck einer um die Tumorreste herum vorhandenen kleinzelligen Infiltration (Fig. 29); unter stärkerer Vergrößerung aber kann man gleich sehen, daß es sich nicht um Lymphocyten, sondern um degenerierte Tumorzellen und polymorphkernige Leukocyten handelt. Wenn die Reste der Implantation verschwinden, so gehen auch die polymorphkernigen Leukocyten zugrunde.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

3) Zusammen mit den polymorphkernigen Leukocyten gibt es in den ersten 24 Stunden eine gewisse Einwanderung von Lymphocyten; ihre Zahl aber vergrößert sich nicht in späteren Stadien; diese Lymphocyten üben am Anfang phagocytäre Eigenschaften aus; wenn der Prozeß zu Ende geht, verwandeln sie sich in große Wanderzellen, die an der Vernarbung teilnehmen.

4) Bei Immuntieren habe ich nie Plasmazellen gefunden; nur am 7. Tage kommen im Fettgewebe, welches um die Implantation herumliegt, kleine, rundliche Elemente vor, deren Kern an den der Plasmazellen erinnert (Fig. 35 x). Ihre Chromatinpartikelchen sind aber nicht so stark färbbar und der Zelleib ist kleiner; im Protoplasma liegen kleine metachromatisch blau-violett gefärbte Körnchen, welche nicht in Plasmazellen auftreten. Ich wäre also geneigt, diese Elemente, welche andererseits nur in spärlicher Zahl vorkommen, für nichts anderes als Azur-Granula enthaltende Lymphocyten zu halten. In meinen Abbildungen habe ich trotzdem diese Elemente mit dem Buchstaben x gezeichnet.

5) Ungefähr am 2. Tage kann man an der Peripherie der Implantation die Bildung von neuen, weiten Kapillaren sehen, dieselben sind von Blutkörperchen ausgefüllt, enthalten aber sehr spärliche Lymphocyten und polymorphkernige Leukocyten. Nach und nach treten diese neuen Kapillaren in die Implantation hinein, brauchen aber dazu ungefähr 5—7 Tage, d. h. sie treten zuerst auf, wenn die Parenchymzellen vollständig degeneriert und verschwunden sind.

6) Gleichzeitig mit der Bildung der Gefäße treten in den Präparaten auch Makrophagen auf, welche am Anfang an der Peripherie der Implantation bleiben, später aber, wenn die Gefäße in die Mitte der Implantation eintreten, auch dort vorhanden sind. Sobald die Makrophagen in der Implantation vorkommen, ersetzen sie die Lymphocyten in der phagocytären Eigenschaft. Ungefähr vom 2. Tage an bietet die Implantation ein Bild wie die Fig. 29 zeigt: in der Mitte ist nur eine kleine nekrotische Masse geblieben, ringsum findet man eine Zone, welche, obwohl in viel kleinerem Maßstab, unter kleinen Vergrößerungen an das schon bei

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

normalen Tieren beschriebene Reaktionsgewebe derselben Zeitperiode, erinnert (vergl. Fig. 29 mit Fig. 28). Unter stärkerer Vergrößerung aber — was, meiner Meinung nach, sehr wichtig ist — zeigt sich bei normalen Tieren die breite Zone hauptsächlich von Lymphocyten und Plasmazellen gebildet (Fig. 36), bei Immuntieren im Gegenteil sieht man nur eine innere Zone von Makrophagen (Fig. 34 a) und eine äußere, welche nur aus dem Vernarbungsgewebe besteht, und welche eigentlich nur einige Fibroblasten, Wanderzellen und polymorphkernige Leukocyten enthält (Fig. 34 b).

7) In den ersten Zeiträumen beobachtet man an der Peripherie der Implantation eine rasche Vermehrung von Fibroblasten, die in kleinen Gruppen sich anhäufen und als isolierte vergrößerte Elemente hervortreten (Fig. 32). Sehr rasch aber nehmen diese Fibroblasten wieder ein fast normales Aussehen an, und als solche sind sie in der Narbe später zu sehen. Ob einige dieser vergrößerten Fibroblasten degenerativ zerfallen, kann ich nicht entscheiden. Ich will nur hervorheben, daß diese Vermehrung und Vergrößerung der Fibroblasten immer vorkommt, wo die schon nekrotischen Teile der Implantation in direkte Berührung mit dem gesunden Wirtstiergewebe kommen; mit anderen Worten: unter denselben Verhältnissen tritt wieder das schon von uns bei Impfung von abgetötetem Material und von großen Dosen eines Spontantumorbreis (siehe oben) beobachtete Phänomen hervor (vergl. Fig. 26).

8) Bei Mäusen, welche gegen Flexnersches Carcinom immunisiert worden waren, habe ich in der Nähe der zweiten Implantation, nach den ersten 24—48 Stunden, ganz merkwürdige Elemente beobachtet, in deren Zelleib metachromatisch rot färbbare Granula in verschiedener Menge sich fanden (Fig. 32, 33). Einige von diesen Zellen erinnern an die schon von mir bei Impfung von abgetötetem Material beschriebenen Elemente (Fig. 27), andere aber hatten ein ganz anderes Aussehen und ihr Kern zeigte sich sehr oft in Mitose begriffen (Fig. 32 c und 33 c). Von all diesen metachromatisch färbbare Granula enthaltenden Elementen werde ich später zu sprechen haben.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

D. Immunisierung mit Embryonenhaut.

Wie bekannt, können Mäuse gegen Krebs durch Impfung mit Mäuseembryonenhaut immunisiert werden. Ich habe die Impfstelle nach Uebertragung von Embryonenhaut untersuchen wollen, um festzustellen, ob während der Immunitätsbildung wieder die starke, schon in anderen Versuchen beobachtete Reaktion vorkommt oder nicht, ferner, um zu sehen, ob diese Reaktion bei mit Haut immunisierten Tieren ausbleibt. Dazu habe ich zwei Präparatserien von Frühstadien, die schon in der Sammlung des Laboratoriums waren, gebraucht. Da diese Präparate aus in Borrelscher Flüssigkeit fixierten Stückchen hergestellt waren, habe ich zum Vergleich noch einige Alk.-Az.-Präparate vorbereitet. Als Immuntiere bediente ich mich solcher Mäuse, die 6 Wochen vorher mit 0,05 ccm eines Embryonenhautbreis zweimal geimpft worden waren. Um die Immunität zu prüfen, wurde in 10 solcher Mäuse ein kleines Bruchstückchen von einem Mäusecarcinom (Stamm „B") mit der Hohlnadel verpflanzt.

Ich kann gleich sagen, daß auch in mit Embryonenhaut immunisierten Tieren keine besondere Reaktion vorkommt. Nur in den ersten 2—3 Tagen ist die lymphocytäre Einwanderung etwas stärker als bei mit Krebs immunisierten Mäusen. Plasmazellen kommen auch bei den mit Haut immunisierten Tieren nicht vor.

Was die Impfstelle nach Hautimpfungen betrifft, kann man den ganzen Prozeß kurz auf diese Weise zusammenfassen. In den 24—48 Stunden ist die Implantation von einer Menge von polymorphkernigen Leukocyten und Lymphocyten überschwemmt. Die Zahl der polymorphkernigen Leukocyten vermindert sich ziemlich rasch, während im Gegenteil die Zahl der Lymphocyten größer wird. Gleichzeitig findet man zwischen den schon präexistierenden Bindegewebselementen viele abgerundete ruhende Wanderzellen (Fig. 37); in einigen davon sind mitotische Teilungen zu finden (Fig. 38), welche an ähnliche, nach Verpflanzung von sporadischen Carcinomen auftretende Phänomene erinnern (vergl. Fig. 31). Teilungen in den Fibroblasten sind nur in den folgenden Tagen zu beobachten. Es ist zu bemerken, daß in diesen Experimenten

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

eine gewisse Zahl der eingewanderten Lymphocyten schon nach 48 Stunden sich in Wanderzellen verändern (Fig. 40). Durch die Vermehrung dieser verschiedenen Elemente bildet sich in ungefähr 5—7 Tagen eine Art von Kapsel um die Implantation herum (Fig. 41). Diese Kapsel enthält außer Fibroblasten und Wanderzellen hier und dort Anhäufungen von Lymphocyten, die in den folgenden Tagen nach und nach verschwinden. Von großem Interesse sind auch einige Elemente, welche nach den Eigenschaften des Protoplasmas den ruhenden Wanderzellen zuzuschreiben sind; während aber einige einen ganz charakteristisch dunkel gefärbten, grobgekörnten Kern (Fig. 39a) besitzen, haben andere einen unregelmäßigen chromatinarmen Kern (Fig. 39b).

Plasmazellen kommen auch hier vor, aber erst sehr spät, ungefähr am 20. Tage, und können nachher, bis die Implantation fast vollständig verschwunden ist (Fig. 42), noch beobachtet werden. Die Hautimplantationen bleiben lange Zeit im Gewebe und können noch nach 6—7 oder 8 Wochen gefunden werden. Zu dieser Zeit aber sind die Epithelzellen vollständig verschwunden und an ihrer Stelle ist nur eine kleine Cyste geblieben, welche einige Makrophagen enthält und von einem Narbengewebe begrenzt ist; zu dieser Zeit habe ich Plasmazellen nicht mehr gefunden.

Ich habe die Impfstelle noch nach einer zweiten Impfung von Embryonenhaut untersucht und habe feststellen können, daß die Epithelelemente viel rascher zugrunde gehen, die lymphocytäre Reaktion viel kleiner ist und die Plasmazellen ausbleiben.

E. Blutimpfungen.

Für diese Experimente wurden 4 Serien von je 10 Mäusen angelegt. Die Mäuse der ersten Serie wurden mit 0,01 ccm defibrinierten Mäuseblutes subkutan injiziert, die Tiere wurden zu regelmäßigen Zeiträumen getötet und die Impfstelle histologisch untersucht; die Mäuse der zweiten Serie wurden ebenso behandelt, aber statt defibrinierten Mäuseblutes habe ich kleine Bruchstückchen koagulierten Blutes mit der Hohlnadelmethode subkutan eingeführt. Die Mäuse der dritten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serie bekamen subkutan 0,5 ccm defibrinierten Blutes zum Immunisierungszweck; nach 10 Tagen wurden sie wie die Tiere der zweiten Serie behandelt. Die Mäuse der vierten Serie, welche schon mit Krebs immunisiert worden waren, habe ich mit 0,01 ccm defibrinierten Blutes wieder geimpft und die Impfstelle wie gewöhnlich zu bestimmten Zeitintervallen untersucht.

In den normalen Mäusen war die Impfstelle makroskopisch nach 6 Tagen nicht mehr erkennbar; in allen immunisierten Mäusen kam dieselbe Erscheinung nach 4 Tagen vor.

Zwischen den Mäusen, die mit defibriniertem Blut und denjenigen, welche mit koaguliertem Blut behandelt wurden, habe ich histologisch an der Impfstelle keine Verschiedenheit beobachtet. Nur bei den letzteren war vielleicht die in beiden Fällen geringe Einwanderung der polymorphkernigen Leukocyten etwas stärker.

In den normalen Mäusen konnte man schon nach 48 Stunden zwischen mehreren Lymphocyten und Makrophagen einige Plasmazellen finden; nach 4 Tagen, als die Lymphocyten größtenteils verschwunden waren, hatte sich die Zahl der Plasmazellen vermehrt, sodaß sich in allen Schnitten kleine Anhäufungen derselben neben den noch nicht von den Makrophagen aufgenommenen Blutkörperchen zeigten.

In den Blutimmuntieren blieb nach der zweiten Einspritzung die Einwanderung der Leukocyten in engeren Grenzen; Plasmazellen habe ich nie in solchen Mäusen gefunden.

Die mit Tumorgewebe immunisierten Tiere boten noch einige Bilder, die mit denen bei Einspritzung von Blutkörperchen normaler Mäuse identisch waren; auch hier traten die Plasmazellen in vielleicht noch größerer Menge hervor; die Abbildung 43 gibt ein schönes Beispiel von einer kleinen Plasmazellenanhäufung bei einem der obengenannten Tiere, 4 Tage nach der Impfung.

Die Versuche mit Blut stimmen also mit allen anderen Beobachtungen überein; besonders ist das frühe Auftreten von Plasmazellen bei Normaltieren (2—4 Tage nach der Blutimpfung) zu betonen, was dem raschen Zustandekommen der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Immunität nach Blutbehandlung entspricht. Von besonderer Wichtigkeit und Interesse ist das Vorkommen derselben Reaktion und der Plasmazellen bei krebsimmunen wie bei normalen Tieren, was eigentlich zu erwarten war; die Tiere waren gegen Krebs, nicht gegen Blut immunisiert. Dies zeigt uns, welch hohen Grad von Feinheit diese „in vivo" vor sich gehenden Reaktionen besitzen.

Uebersicht der Resultate.

Mit den Blutversuchen sind meine experimentellen Untersuchungen vorläufig abgeschlossen, obwohl sie keineswegs vollständig sind. Ich habe weder das Blut noch die Lymphdrüsen und die blutbildenden Organe berücksichtigt, obwohl schon am Anfang die in großen Entfernungen von den Tumoren resp. von den Impfstellen beobachteten Veränderungen des Fett- und Bindegewebes vermuten lassen, daß auch in diesen Organen Phänomene wahrscheinlich vorkommen, die für das Verständnis der Krebsimmunitätsbildung von Bedeutung sein dürften. Ich habe weiter absichtlich meine Versuche auf Carcinome und auf Mäuse beschränkt, obwohl es doch wertvoll gewesen wäre, die ganze Reihe von Versuchen mit anderen Tieren und Sarkomen zu wiederholen. Auch die Anwesenheit und das Ausbleiben der Plasmazellen unter verschiedenen Verhältnissen bedürfen vielleicht genauerer Untersuchung.

Trotzdem scheint es mir, daß schon aus den gemachten Versuchen einige Schlußfolgerungen allgemeinen Charakters, welche auch zur Orientierung weiterer Studien dienen könnten, erlaubt sind. Der Klarheit der Darstellung halber halte ich es für wertvoll, die verschiedenen Reaktionselemente getrennt zu betrachten.

1) Die polymorphkernigen Leukocyten. Sie sind die ersten Zellen, welche auf der Impfstelle erscheinen; sie offenbaren unter aseptischen Bedingungen keine eigentliche sichtbare phagocytäre Tätigkeit, degenerieren gleich an Ort und Stelle und verschwinden endlich; nur einige vergrößern sich und bleiben als dauernde Elemente im Stroma der neuen Tumoren oder im Narbengewebe erhalten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die polymorphkernigen Leukocyten scheinen in keinem bestimmten Zusammenhang mit der Entstehung der Immunität zu stehen; tatsächlich wurde ihre Anwesenheit in keiner Weise von dem verschiedenen gebrauchten Impfmaterial beeinflußt; sie kommen in gleichen Mengen bei Uebertragung von gut entwickelten Tumoren, bei normalen und immunisierten Tieren, nach Impfung von abgetötetem Material, sowie von Blut oder von fremdartigen Tumoren vor. Nur die Zeit ihres Verschwindens hat sich in den verschiedenen Experimenten etwas verändert; während sie nur sehr kurz in der Umgebung von gesunden lebendigen Parenchymzellen bleiben, können sie während mehrerer Tage in der Nähe von etwas mehr oder weniger degenerierten Elementen, oder von groben Bindegewebsresten beobachtet werden.

Diese Tatsache ist, meiner Meinung nach, sehr wichtig, indem sie uns vermuten läßt, welche Funktion die polymorphkernigen Leukocyten bei subkutanen Impfungen von Carcinomen, oder abgetötetem Material, oder Blut, ausüben; es ist anzunehmen, daß sie nicht nur das Terrain für die anderen Zellformen bereiten, sondern auch die nicht mehr lebendigen Elemente und die nekrotischen Reste resorptionsfähig machen; ob dazu auch die in ihrem Körper enthaltenen Stoffe eine Rolle spielen und ob sie das schon abgetötete Material in eine Art Lösung bringen, war durch diese morphologische Untersuchung nicht möglich, festzustellen [1]).

2) Die Lymphocyten (kleine, amöboide Wanderzellen Maximow, ungekörnte Leukocyten Weidenreich). Sie kommen in sehr großer Menge während der Immunitäts-

1) Diese Schlußfolgerungen wären in Uebereinstimmung mit den neulich erschienenen Resultaten von Schultze (Zieglers Beiträge, 1909, Heft 1). Der Verf. hat, mit Hilfe einer für Gewebsschnitte modifizierten Röhmann-Spitzer-Reaktion — der Indophenylblausynthese — in den Leukocyten ein Oxydationsferment färberisch dargestellt. Nach dem Verf. scheint die Wirksamkeit dieses Ferments sich (in Verbindung mit anderen Fermenten) einmal in der Zelle selbst zu entfalten, wofür das Vorkommen von Fett, Glykogen, Pigment, Eisen an der gleichen Stelle spricht, aber auch nach Zerstörung der Zelle außerhalb des Zelleibes bei Auflösung abgestorbener Gewebe.

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

bildung in der Umgebung der Impfstellen vor; wenn die Parenchymelemente (Carcinome, Embryonenhaut usw.) vollständig zugrunde gegangen sind, vermindert sich allmählich ihre Zahl und endlich verschwinden sie.

Ihr Zusammenhang mit dem Immunitätsmechanismus kann, glaube ich, nach den von mir beschriebenen Experimenten nicht geleugnet werden: ihre Anwesenheit während der Spontanheilung kann nicht als ein Zufall betrachtet werden, da sie auch nach Impfungen von sporadischen, nicht wachsenden Carcinomen, von Embryonenhaut hervortreten, d. h. nach Uebertragung irgendeines Materials, welches fähig ist, die Maus gegen Krebs resistent zu machen. Sie bleiben aus oder erscheinen in ganz geringen Mengen, wenn die Tiere einmal immun sind, sowie nach Impfungen von abgetöteten (gefrorenen und zerriebenen) Tumoren, welche nicht imstande sind, die Tiere zu immunisieren.

Ihre Anwesenheit ist ferner nicht von der Größe der Dosis abhängig; wir haben tatsächlich gesehen, daß z. B. bei Mäusen, welche mit einer ganz kleinen Dosis von Rattencarcinom immunisiert worden waren, auch wenn die Dosis der zweiten Impfung mehr als doppelte gewesen ist, die Lymphocyten fast vollständig ausgeblieben sind.

Bei wachsenden und gut entwickelten Tumoren (Carcinomen) treten kleine lymphocytäre Anhäufungen nur an Stellen auf, welche als Punkte lokaler Heilung betrachtet werden dürfen; die Resultate der von anderen Autoren an partiell heilenden malignen Geschwülsten des Menschen gemachten Beobachtungen stimmen hiermit überein.

Die Lymphocyten scheinen nur in irgendeiner unbekannten Weise durch etwas veränderte aber auch nicht vollständig gestorbene Elemente aktiv chemotaktisch gereizt zu werden: gesunde Zellen und nekrotische Massen rufen fast keine lymphocytäre Reaktion hervor.

Wie ich schon erwähnt habe, und wie die Abbildungen zeigen, bleiben die Lymphocyten in direkter Beziehung zu den veränderten Parenchymzellen, bis dieselben zerfallen

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

sind, danach verschwinden auch sie allmählich; sind die Tiere einmal immunisiert, so ist eine zweite Impfung des schon für Immunisierung gebrauchten Carcinoms nicht mehr imstande, dieselbe starke Reaktion hervorzurufen. Dies läßt uns vermuten, daß 1) die Carcinomzellen in irgendeiner unbekannten Weise die Lymphocyten **spezifisch** beeinflussen können, 2) daß die so beeinflußten Lymphocyten die Immunität auf den ganzen Mäusekörper verbreiten. Für solche Vermutungen sprechen folgende Argumente:

a) Ein gut gewachsener Tumor (sehr kleine lymphocytäre Reaktion) kann die Tiere nur teilweise gegen eine zweite Impfung schützen.

b) Tiere, die mit einem gewissen Carcinom immunisiert sind, besitzen nur eine partielle Resistenz gegen andere Carcinome (Spezifität der Reaktion).

c) Bei Tieren, die nur partiell immunisiert sind, kommt die lymphocytäre Reaktion teilweise wieder vor.

d) Die beste und leichteste Art, Mäuse gegen einen Krebs zu immunisieren, ist, nicht zu kleine Dosen desselben Carcinoms anzuwenden (Spezifität der Reaktion): die Immunisation mit Embryonenhaut kann manchmal nicht genügend hoch sein; Blut immunisiert nur für eine kurze Zeitperiode.

e) Die lymphocytäre Reaktion tritt wieder nach Blutimpfungen in Mäusen, die mit Krebs gegen Krebs immunisiert wurden, hervor; nicht aber nach denselben Blutimpfungen in Mäusen, die mit Blut immunisiert waren (Spezifität der Reaktion).

An dieser Stelle wäre die schwierige Frage in Betracht zu ziehen, woher die Lymphocyten stammen, die in so großen Mengen nach 48 Stunden auf der Impfstelle vorkommen, ferner, auf welchem Wege sie am Ende des Resorptionsprozesses verschwinden. Teilungen sind im umliegenden Gewebe tatsächlich vorhanden, sie sind aber verhältnismäßig selten und können nicht in so kurzer Zeit eine so außerordentlich große Menge von Elementen, welche in einigen Fällen mehr als die Hälfte eines ziemlich großen Tumors bilden, erzeugen. Ich wäre also geneigt, mich der Anschauung derjenigen Autoren anzuschließen, welche den Lymphocyten die Fähigkeit, sich unter verschiedenen Reizungen amöboid

Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

zu bewegen, zuschreiben und anzunehmen, daß sie aus den Blutgefäßen eventuell auch aus den Lymphbahnen aktiv emigrieren können; ob die Lymphocyten am Ende des Resorptionsprozesses teilweise in die Blutbahnen oder in den Lymphstrom aktiv zurückkehren können, ist bei dem heutigen Stand der Wissenschaft nicht zu entscheiden.

3) Die Plasmazellen. Viel von dem Obengesagten könnte für diese Elemente wiederholt werden. Besonders für ihre Anwesenheit während der Immunitätsbildung im Fett- und Bindegewebe, in großen Entfernungen von der Impfstelle, muß ich auch diesen Elementen eine sehr wichtige Rolle für die Krebsimmunität zuschreiben. Daß es sich hier um normale Bilder handelt, habe ich schon oben auszuschließen gesucht. Will man trotzdem annehmen, daß schon normalerweise im Fett- und Bindegewebe der Mäuse Plasmazellen existieren, so handelt es sich sicher um spärliche Exemplare, welche den Wert der von mir nur während der Immunitätsentstehung beobachteten Plasmazellenanhäufungen nicht vermindern können. Leider kennen wir heutzutage gar nichts über die Funktion dieser merkwürdigen Elemente. Sie geben uns aber einen Fingerzeig, daß der Mechanismus der Krebsimmunität nicht nur mit einer lokalen Reaktion verbunden ist, sondern mit Veränderungen des übrigen Tierkörpers zusammenhängt. Es ist erlaubt zu vermuten, daß die Plasmazellen selbst den morphologischen Ausdruck eines organischen Verteidigungsprozesses vorstellen; andererseits wäre es unmöglich zu verstehen, warum sie bei Immuntieren weder an der Impfstelle, noch im übrigen Fett- und Bindegewebe vorkommen oder doch nur in so kleiner Menge, daß sie nicht nachweisbar sind.

4) Die Makrophagen. Was ich unter diesem Namen verstehe, brauche ich nicht nochmals an dieser Stelle zu erwähnen; auch ihre Funktion scheint mir genügend deutlich. Es ist nur noch einmal zu erwähnen, daß sie in die Impfstelle nur mit den Gefäßen zusammen eintreten, und ihre phagocytäre Fähigkeit nur gegen Elemente, die noch nicht voll-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:45 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ständig zugrunde gegangen sind, ausüben. Ob sie bei der Verdauung des zerfressenen Materials bei der Immunitätsbildung eine Rolle spielen, kann ich, meinen Experimenten nach, nicht ausschließen.

5) Die Mastzellen scheinen keine Rolle bei der Immunitätsbildung zu spielen. Wir haben gesehen, daß sie im Stroma von gut wachsenden Tumoren als normale Elemente bleiben; bei Spontanheilung scheinen sie noch zu degenerieren und zu zerfallen.

Ich möchte gern kurz die merkwürdigen, metachromatisch färbbare Granula enthaltenden Elemente, welche auf der Impfstelle nach der Impfung mit abgetötetem Material (Fig. 27) und mit fremdartigen Carcinomen in Immunmäusen vorkommen (Fig. 32 und 33), hervorheben. Ich wäre geneigt zu denken, daß einige (Fig. 27) nichts anderes als degenerierte Mastzellen sind (vergl. auch Fig. 15); daß die anderen (Fig. 32 und 33) gewöhnliche große Lymphocyten sind, welche metachromatisch färbbare Granula von zerfallenen Mastzellen in ihren Körper aufgenommen haben. Dies wird wahrscheinlich durch die Anwesenheit in solchen Elementen nicht nur von metachromatischen Körnchen, sondern auch von Zellenresten (Fig. 33 c). Ob die in Mitose begriffenen Elemente (Fig. 32 c und 33 a), welche wieder metachromatische Körnchen besitzen, Mastzellen oder Lymphocyten, welche die Granula aufgenommen haben, sind, scheint mir fast unmöglich, ohne andere angestellte Versuche, zu entscheiden.

6) Die Fibroblasten. Sie scheinen in keiner direkten Beziehung mit der Immunitätsbildung zu stehen und sind besonders von den gesunden Krebszellen gereizt.

Wie aus den Untersuchungen über die Frühstadien von gutwachsenden Carcinomen bei normalen Mäusen hervorgeht, ist in diesen Fällen die Fibroblastenwucherung von einer angioblastischen Reaktion (Endothelzellensprossung — Bildung von neuen Gefäßen) begleitet.

Bei Impfungen derselben Carcinome bei Immuntieren bleiben die fibroblastische und angioblastische Reaktion aus. Die einzige mögliche Erklärung dieses Phänomens ist noch heutzutage die schon von Bashford und seinen Mitarbeitern (Royal Society Proc.

Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

London B., Vol. 79, 1907; Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 1, Heft 4, p. 543) gegebene; die Verf. denken, daß die Aenderung der chemotaktischen Wirkung der Krebszellen auf die Gewebe (Bindegewebe und Gefäße) des Wirtstieres auch von einer aktiv erworbenen Veränderung der Gewebe des Wirtstieres selbst begleitet ist.

Nach Impfungen von abgetöteten Carcinomzellen kommt wieder eine starke fibroblastische Reaktion vor. Es ist nicht möglich, vorläufig eine Erklärung dieses merkwürdigen Phänomens zu geben; man kann nur hervorheben, daß im Gegenteil mit Uebertragungen von gesunden lebendigen Elementen die Reaktion eine kürzere Zeitperiode dauert und von fast keiner Gefäßneubildung begleitet ist, eine solche tritt in kleinen Verhältnissen nur viele Tage nach der Impfung der abgetöteten Zellen hervor, wenn die Vernarbungsphase schon eingetreten ist.

7) Die anderen Bindegewebselemente (ruhende Wanderzellen, Riesenzellen usw.) scheinen, wie genügend aus den Versuchen hervorgeht, nicht zur Krebsimmunität Beziehungen zu haben; sie spielen eine Rolle nur bei den schließenden Vernarbungs- und Organisationsprozessen, welche eigentlich nicht viel von den von anderen Autoren bei verschiedenen Tieren untersuchten verschieden sind.

Am Schluß dieser Arbeit ist es mir eine sehr angenehme Pflicht, meinen respektvollen Dank dem Committee of the Imperial Cancer Research Fund für die Erlaubnis, in ihrem so vortrefflich eingerichteten Laboratorium zu arbeiten, auszudrücken. Ich bin besonders dem Direktor des Laboratoriums, Herrn Dr. Bashford, für das in so reichlicher Menge zu meiner Verfügung gestellte Material und für die mir gebotene Gelegenheit, Experimente aller Art auszuführen, dankbar. Den Assistenten des Laboratoriums, meinen Kollegen, Herrn Dr. Murray, Herrn Dr. Haaland, Herrn Dr. Russell und Herrn Dr. Bowen, welche mir bei meinen Untersuchungen sehr hilfsbereit gewesen sind, möchte ich auch meinen besten Dank aussprechen.

Sämtliche Abbildungen von meinen Präparaten sind nach Zeichnungen von Herrn J. R. Ford verfertigt worden.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Erklärung der Abbildungen.

Für alle Figuren gültige Bezeichnungen.

Carc.Z. = Carcinomzellen.
Edk. = Endozellenkerne.
Eos.Lkc. = eosinophile Leukocyten.
Erc. = Erythrocyten.
Fbl. = Fibroblasten.
L. = Gefäßlumen.
Lmc. = Lymphocyten
Mk. = Makrophagen.
Mz. = Mastzellen.
P. = Zerfallsprodukte von Zellen.
Plz. = Plasmazellen.
pl.Lkc. = polymorphkernige Leukocyten.
Rz. = Riesenzellen.
ruh.Wz. = ruhende Wanderzellen.
Wz. = Wanderzellen.

Alle Abbildungen stellen Carcinome oder Bindegewebselemente der Maus dar und sind mit Hilfe der Abbe-Zeissschen Zeichenkamera gezeichnet worden. Höhe des Arbeitstisches = 30½ cm, Länge des Tubus = 160 mm.

Tafel I.

Fig. 1. Fibroblasten des normalen Bindegewebes. Alkohol-Azur, Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 2. Elemente des normalen Bindegewebes. Methode wie Fig. 1. Obj. 2 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 6.

Fig. 3. Ruhende Wanderzellen des normalen Subkutangewebes, a, mit tiefblau gefärbten Körnchen, b, c, d, e, ohne bestimmte Körnelung. Methode und Vergrößerung wie Fig. 2.

Fig. 4. Lymphocyten des normalen Subkutangewebes. Methode und Vergrößerung wie Fig. 2.

Fig. 5. Fettzelle des normalen Bindegewebes. Methode und Vergrößerung wie Fig. 2.

Fig. 6. Eosinophile Leukocyten, polymorphkernige Leukocyten und Lymphocyten in der Nähe einer kleinen Blutung. Frühstadien von Carcinom 27 in normalen Mäusen, 11 Tage nach der Verpflanzung. Zenker-Giemsa. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 7. Bildung des neuen Stromas in Frühstadien von Carcinom 27, 4 Tage nach der Verpflanzung. Obj. 3 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 4.

Fig. 8. Elemente des Stromas von gut entwickelten Carcinomen, Lymphocyten und Erythrocyten in einer kleinen Stelle von lokaler Heilung, Carcinom 65. Zenker-Weigert-van Gieson. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 9. Durchschnitt der ganzen Implantation des Carcinoms 27, 11 Tage nach der Verpflanzung, partielle Degeneration des Parenchyms und entsprechende Reaktion. Alk.-Polychromes-Methylenblau. Obj. 35 mm, Apochr. Zeiss, Komp.-Ok. 6.

Fig. 10. Eosinophile Leukocyten, polymorphkernige Leukocyten und Lymphocyten bei Spontanheilung. Carcinom 65. Zenker-Giemsa. Obj. 2 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 6.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tafel II.

Fig. 11. Bild der Spontanheilung. Ausführliche Erörterung im Text. Carcinom $\frac{65}{24\,B}$. Alk.-Mbl. Obj. 4 mm, Apochr. Zeiss, Komp.-Ok. 6.

Fig. 12. Degenerierte Carcinomzellen, von Makrophagen umringt. Carcinom $\frac{32}{51\,A}$. Methode wie Fig. 11. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Komp.-Ok. 6.

Fig. 13. Plasmazellen und Lymphocyten in den Gefäßumgebungen bei Spontanheilung. Material und Methode wie Fig. 11, Vergrößerungen wie Fig. 12.

Fig. 14. Ueberwucherung des Stromas und plasma-zelluläre Anhäufungen am Anfang der Spontanheilung, Borrel. Carcinom. Methode wie Fig. 11. Obj. 2 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 6.

Fig. 15. Degenerierte Mastzellen mit roter und blauer Körnelung. Spontanheilung. Material und Methode wie Fig. 11. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 16. Große charakteristische Makrophagen. Spontanheilung. Carcinom $\frac{65}{24\,C}$. Methode und Vergrößerungen wie Fig. 15.

Fig. 17. Makrophagen, welche Zellenreste aufgenommen haben. Material, Methode und Vergrößerungen wie Fig. 15.

Fig. 18. Riesenzelle, durch das Verschmelzen von Makrophagen entstanden. Material, Methode und Vergrößerungen wie Fig. 16.

Fig. 19. } Fremdkörperriesenzellen, Sarkom $\frac{92}{14\,B}$. Alk.-Az. Obj. 1,5 mm,
Fig. 20. } Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 21. Epithelialriesenzelle von einem Präparat von Haaland Tumor $\frac{37}{10\,A}$. Nur teilweise gezeichnet. Vergrößerung wie Fig. 19 und 20.

Fig. 22. Neugebildete Kapillare, von Lymphocyten erfüllt. Spontanheilung. Carcinom $\frac{65}{24\,C}$. Alk.-Mbl. Obj. 3 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40 Komp.-Ok. 6.

Fig. 23. Isolierte Plasmazellen im Fettgewebe. Aus einem Präparat von in großen Entfernungen vom Tumor herausgeschnittenen Bindegewebe. Spontanheilung $\frac{\text{Jensen}}{139\,B}$. Alk.-Az. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 24. Plasmazellen im Fettgewebe und im perivaskulären Raum. Material, Methode und Vergrößerung wie Fig. 23.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tafel III.

Fig. 25. Zur Erklärung der unbedeutenden Veränderungen des Bindegewebes in der Nähe der Carcinomimplantation bei Krebsimmuntieren. 4 Tage nach der Impfung eines Bruchstückchens des Carcinoms 27. Alk.-Az. Obj. 2 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 6.

Fig. 26. Hypertrophie und Vermehrung der Fibroblasten nach Impfung von abgetötetem Material: a) nekrotisches Gewebe, b) Fibroblastenwand. 2 Tage nach der Uebertragung von Carcinom $\frac{63}{25\,A}$ gefroren und zerrieben. Methode wie Fig. 25. Obj. 3 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 6.

Fig. 27. In Degeneration begriffene Mastzellen, (?). Material und Methode wie Fig. 26. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 28. Durchschnitt der ganzen Implantation von Flexner-Rattencarcinom in Mäusen. 7 Tage nach der Verpflanzung. Uebermäßige Ausbreitung der lymphocytären Reaktion. Alk.-Az. Obj. 35 mm, Apochr. Zeiss, Komp.-Ok. 6.

Fig. 29. Durchschnitt der ganzen Implantation von Flexner-Rattencarcinom in Mäusen, die mit demselben Tumor immunisiert waren. 7 Tage nach der Impfung. Vollständige Degeneration der Parenchymelemente. Reaktionsgewebe sehr wenig ausgebreitet, bestehend hauptsächlich aus polymorphkernigen Leukocyten und Makrophagen. Methode und Vergrößerung wie Fig. 28.

Fig. 30. Plasmazellenanhäufung im Fettgewebe aus einem Präparat von in großer Entfernung von der Implantation herausgeschnittenem Bindegewebe. Impfung von Flexner-Rattencarcinom in Mäuse, 11 Tage nach der Uebertragung. Alk.-Az. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Tafel IV.

Fig. 31. Mitose in einer ruhenden Wanderzelle. Aus dem umliegenden Bindegewebe einer Implantation von Carcinom 285, 2 Tage nach der Uebertragung. Methode und Vergrößerung wie Fig. 30.

Fig. 32. Große Fibroblasten und metachromatisch färbbare Granula enthaltende Elemente aus der Nähe einer Implantation von Flexner-Carcinom, in mit demselben Tumor immunisierten Mäusen. 2 Tage nach der Uebertragung. Zenker-Mbl. Vergrößerung wie Fig. 30.

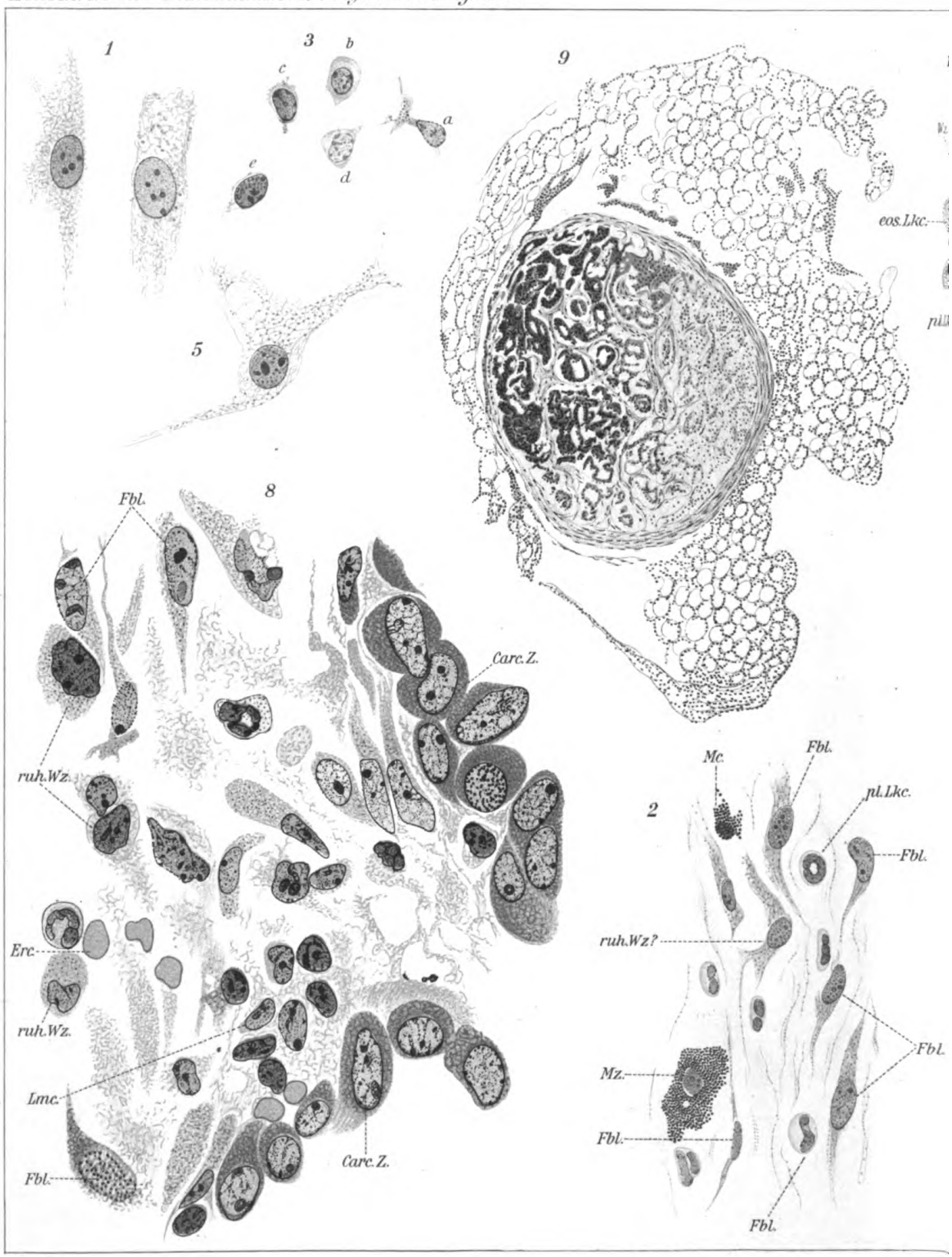
Fig. 33. Elemente mit metachromatisch färbbaren Granula. a) in Mitose, b) in Degeneration begriffen, c) mit einem zerfressenen polymorphkernigen Leukocyten. Material, Methode und Vergrößerung wie Fig. 32.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

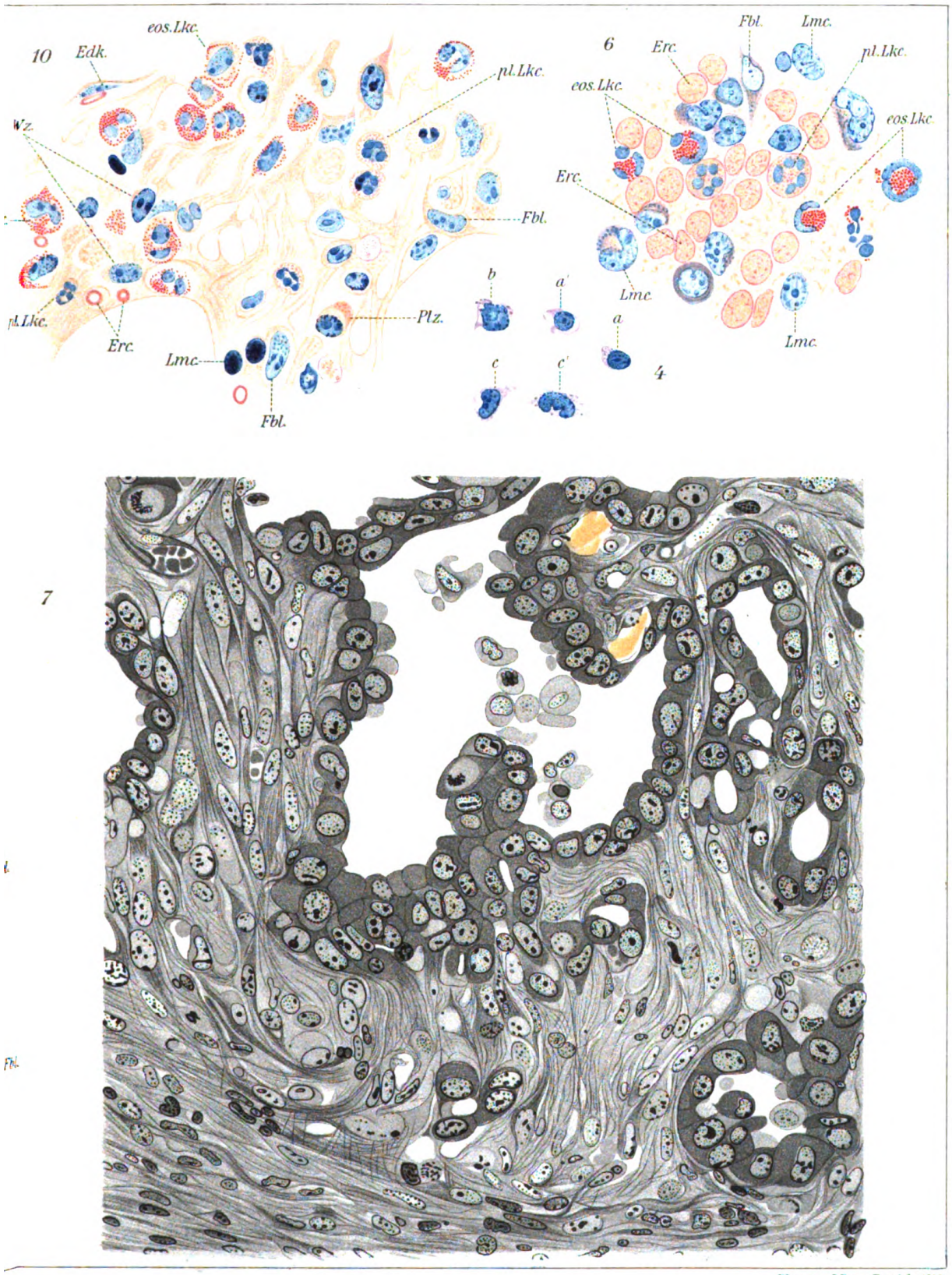
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF IOWA



Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

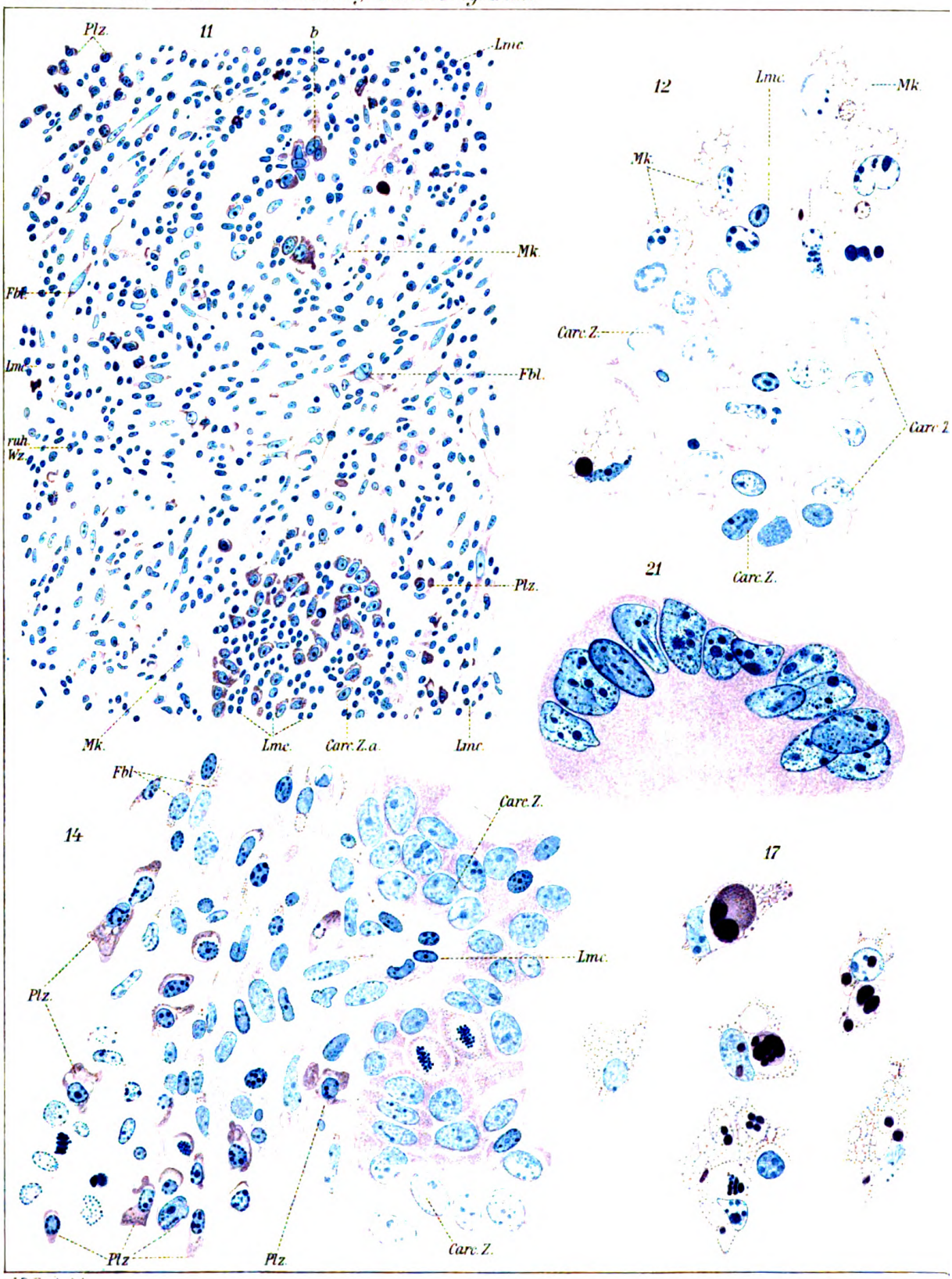


Werner u. Winter, Frankfurt a/M.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

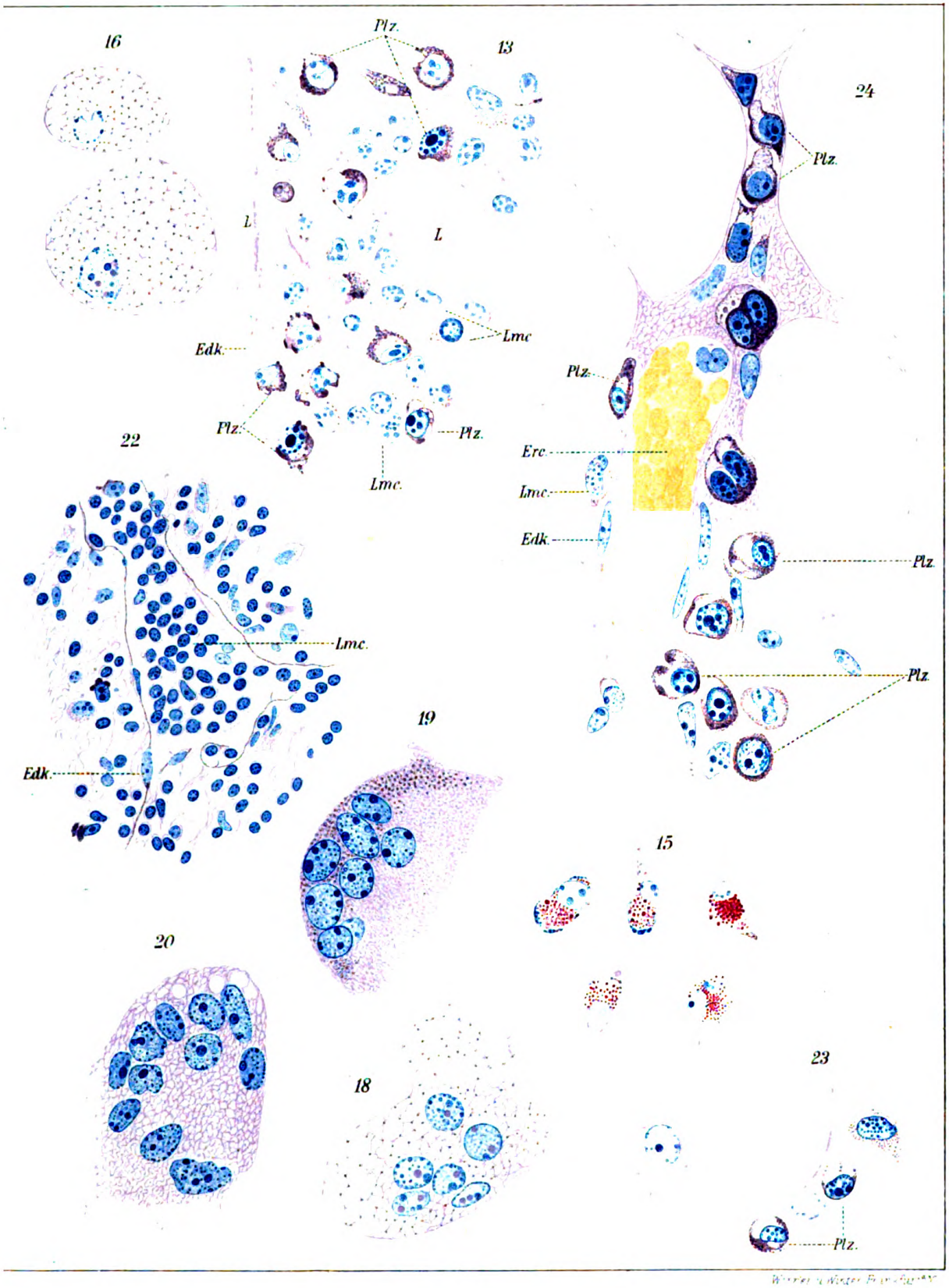
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA



J. B. Ford. del.

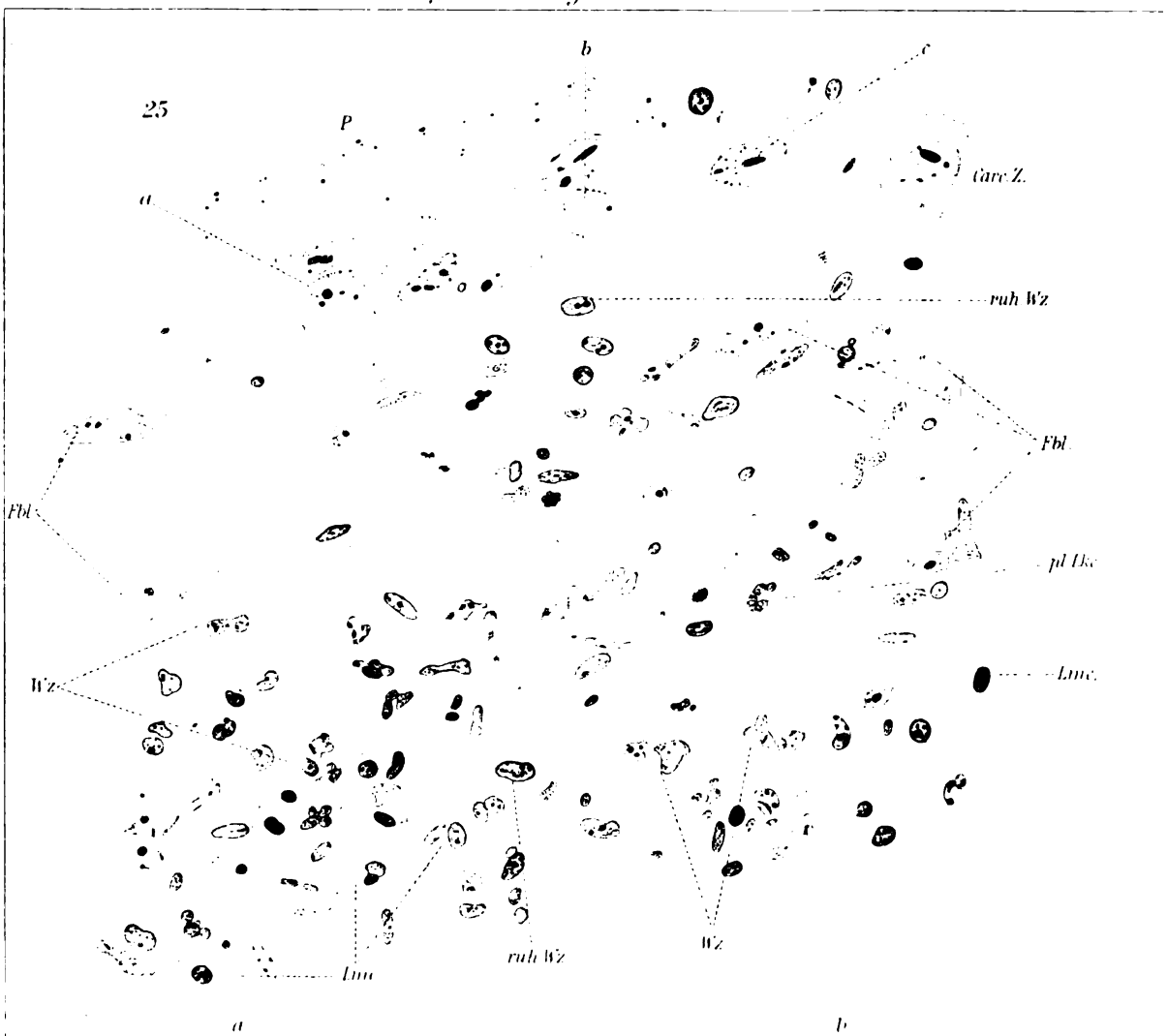
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

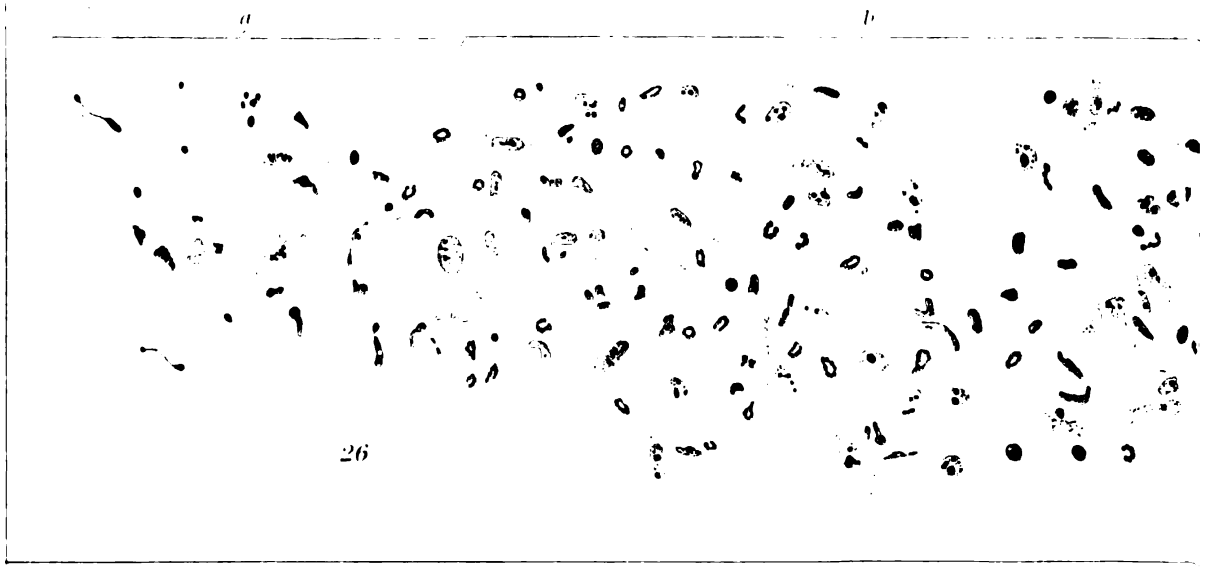


Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

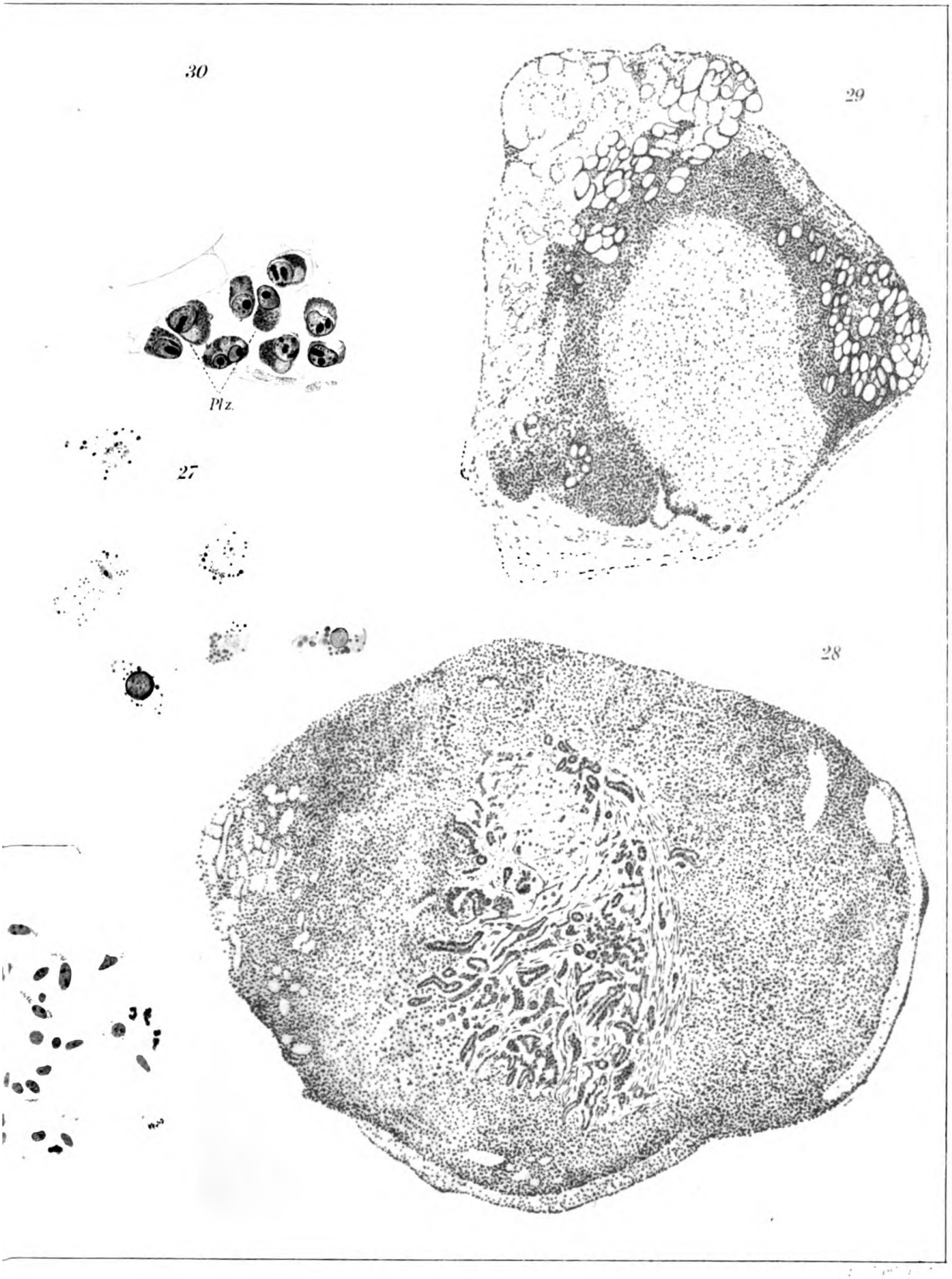
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA





Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



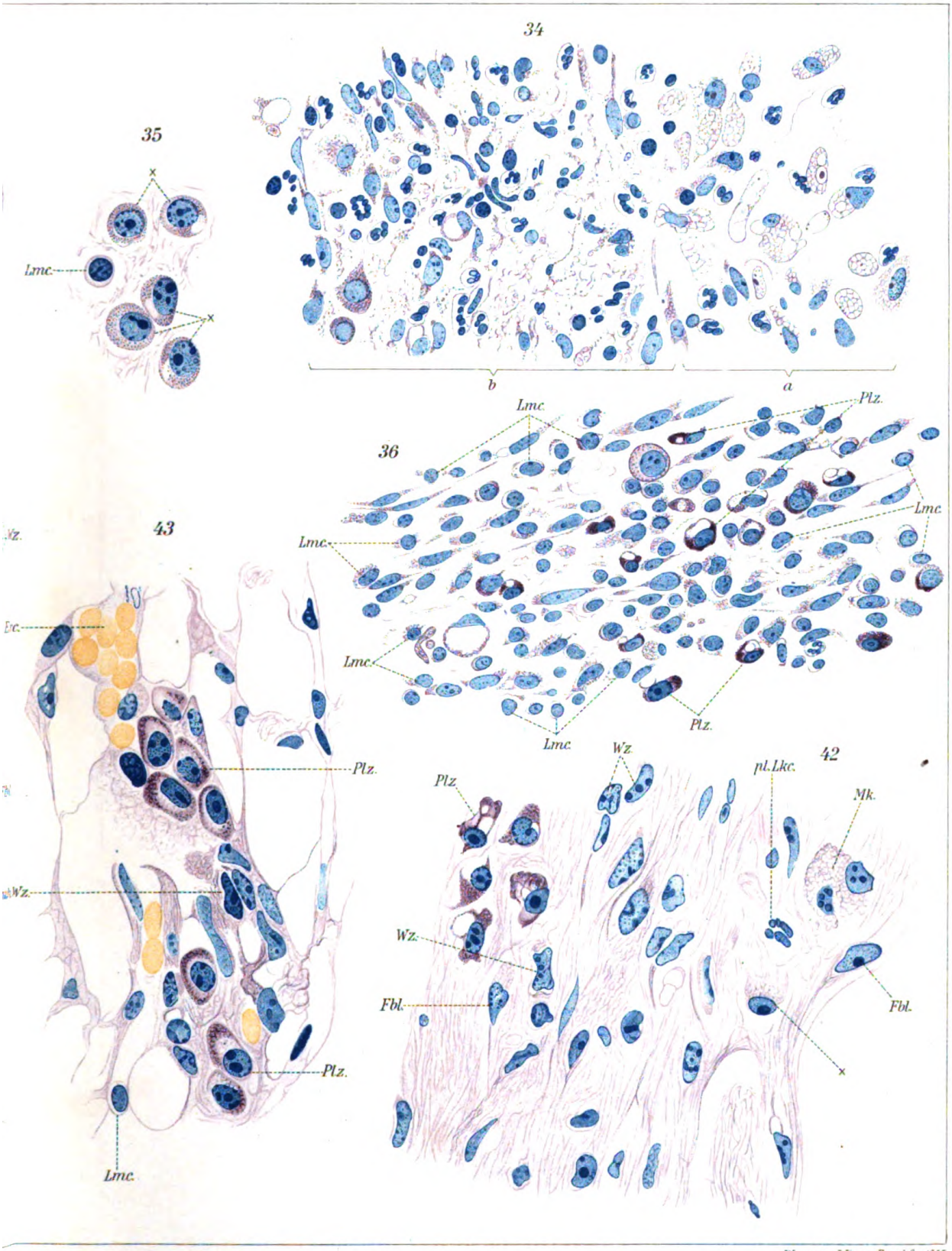
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

R Ford del.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Werner u. Winter, Frankfurt a/M.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Fig. 34. Zur Erklärung der Elemente, welche an der Peripherie der Implantation von Flexner-Rattencarcinom, in mit demselben Tumor immunisierten Mäusen sich finden. a) innere Zone (aus Makrophagen bestehend), b) äußere Zone (aus polymorphkernigen Leukocyten und Fibroblasten bestehend). 7 Tage nach der Uebertragung. Alk.-Az. Obj. 3 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,40, Komp.-Ok. 6.

Fig. 35. Elemente (x) mit Az.-Granula (?); aus demselben Präparat. Obj. 1,5 mm, Apochr. Zeiss, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 6.

Fig. 36. Zur Erläuterung der Elemente, welche im Reaktionsgewebe nach Impfung mit Flexner-Rattencarcinom in normalen Mäusen sich finden (Lymphocyten, Plasmazellen und spärliche Fibroblasten), 2 Tage nach der Impfung. Methode und Vergrößerung wie Fig. 34.

Fig. 37. Ruhende Wanderzellen, die sich abgerundet haben. In der Umgebung einer Embryonenhautimplantation, 24 Stunden nach der Uebertragung. Borrel-Eisenhämatoxylin. Vergrößerung wie Fig. 34.

Fig. 38. Mitose in ruhenden Wanderzellen und vergrößerten Lymphocyten. Material wie oben, 48 Stunden nach der Uebertragung. Vergrößerung wie Fig. 34.

Fig. 39. Zwei verschiedene Formen von ruhenden Wanderzellen. Material, Methode und Vergrößerung wie Fig. 34.

Fig. 40. Wanderzellen in der Nähe der Embryonenhautimplantation. Material, Methode und Vergrößerung wie Fig. 38.

Fig. 41. Junges Narbengewebe aus der Wand einer Embryonenhautimplantation in normalen Mäusen, 8 Tage nach der Uebertragung. Methode und Vergrößerung wie Fig. 38.

Fig. 42. Plasmazellen aus der Wand einer Embryonenhautimplantation in normalen Mäusen, 30 Tage nach der Uebertragung. Alk.-Az. Vergrößerung wie Fig. 38.

Fig. 43. Plasmazellen-Anhäufungen im Subkutangewebe, 4 Tage nach der Impfung von defibriniertem Blut, in mit Krebs immunisierten Mäusen. Zenker-Mbl. Vergrößerung wie Fig. 38

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[From the Bacteriological Laboratory, London Hospital.]

Observations on the Wassermann reaction, with special reference to the influence of specific treatment upon it.

By **James McIntosh, M. D.,**
Research Scholar of the Grocers Company.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Januar 1910.)

In spite of the considerable attention which has been bestowed on the nature of the Wassermann reaction by numerous observers, one must admit that no very definite results have as yet been achieved. The same might equally well be said with regard to the nature of the active substance in the syphilitic patient's serum. The more important theories which have recently been put forward concerning the nature of the reacting substance may be summed up much as follows:

1) That the substance is a true anti-body produced by reaction of the tissue cells against the invading spirochaete (Wassermann).

2) That it is a new type of substance with which we have until now been unacquainted — Reargine — (Citron).

3) That the substance is a non-specific body produced as the result of cellular degeneration, and is not of the nature of an antibody at all (Levaditi).

Although each of these views has certain points in its favour, the last is the one which appears to be gaining most adherents. It may, however, be pointed out that in the present state of knowledge it should not be forgotten that these are merely theories.

The present research was made with the idea of ascertaining in what way the reacting substance or substances in the sera of syphilitic patients differed in their physical properties from certain known antibodies, and also what influence specific treatment had on the reaction.

The technique employed during the research differs only in a few details from Wassermann's original method, and

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

is fully described in a former article. In this series of observations, however, I found it more convenient to use an alcoholic extract of the dried congenital syphilitic liver instead of a watery extract. One gramme of the dried liver is taken and pounded in an agate mortar, then one cub. cent. of saline solution added, and a few minutes afterwards 30 c.c. of absolute alcohol. After and interval of two days, the alcohol is poured off, and the extract is ready for use. If the liver be an active one, 0,1 c.c. of this alcoholic extract will usually be found to be sufficient as antigen. The degree of inhibition of haemolysis is proportional to the "+" marks given in the various tables. Where any doubt existed, the degree of haemolysis was obtained by estimating the percentage of haemoglobin present by means of von Fleischl's haemoglobinometer, this being then compared with the control tube.

Experiment I. March 20th, 1909.

The serum used in this experiment was obtained from a case of congenital syphilis associated with ascites. Unless otherwise stated, the serum was inactivated by heating for half an hour at 56° C. The ascitic fluid, as well as the serum, was tested quantitively for the Wassermann reaction. The experiment consisted in observing the effects of heat at 60° C and 70° C for half an hour, and the effect on the reaction of the passage of the serum through a collodion and a porcelain filter (Doulton). A quantity of the serum was also dialysed in a collodion sac. In each observation, 0,2, 0,1, 0,05 and 0,025 c.c. of the serum was tested.

The following table gives the results obtained.

Table I.

Amount	0,2 c.c.	0,1 c.c.	0,05 c.c.	0,025 c.c.
a) Serum	++++	++++	++++	+++
b) Ascitic fluid	++++	+++	++	+
c) "Collodion" filtrate	+	0	0	0
d) "Porcelain" filtrate	0	0	0	0
e) Serum heated at 60° C	+++	++	++	+
f) Serum heated at 70° C	++	+	0	0
g) Dialysed serum	0	0	0	0

In the above experiments fairly stout collodion sacs were employed, as otherwise they would not withstand the 20 m.m. of mercury pressure required to make the serum pass through.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

With the exception of the dialysis experiment, g), the serum was diluted with an equal volume of saline solution (0,8 %). The + marks, as stated above, are proportional to the inhibition of haemolysis.

Experiment II. April 10th, 1909.

This was really a repetition of Experiment I, except that the serum employed was obtained from a case of wellmarked secondary syphilis. The results corroborated those obtained above.

Table II.

Amount	0,2 c. c.	0,1 c. c.	0,05 c. c.
Serum	++++	++++	++++
"Collodion" filtrate	0	0	0
"Collodion" residue	++++	++++	++++
"Porcelain" filtrate	0	0	0
"Porcelain" residue	++++	++++	++++
Dialysed serum	0	0	0
Dialysed residue	+++	+++	++

It was also found that the serum after half-saturation with ammonium sulphate, as Noguchi (14) has shown, no longer gave the Wassermann reaction even when the excess of ammonium sulphate had been dialysed out, while the clear fluid from a blister on the knee of a case of secondary syphilis gave a complete reaction.

These experiments tend to show that the reacting substance in the sera of syphilitic subjects, with regard tho the above mentioned chemical and physical agents, does not behave in exactly the same manner as most known immune bodies, for, according to Frouin (7), practically all amboceptors pass fairly easily through a collodion filter. This inability to pass through a collodion[1]) or porcelain filter, would suggest that the molecule of the reacting substance is considerably larger than that of most true antibodies. On the other hand, the occurrence of the active substance in such serous exudates, as ascitic and blister fluids, is quite in accordance with what one finds in the case of most immune bodies.

1) A similar result has been obtained by Mutermilch. Compt. rendu de la Soc. de Biol. Paris, T. 67, 1909, p. 125.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Experiment III.

At present, a very large number of experimenters are of opinion that the antigenic action of congenital syphilitic liver is chiefly due to the presence of lipoids; others again are inclined to the view that the reaction is wholly due to the interaction of lipoids. Weil and Braun (21), however, have shown that congenital syphilitic liver rendered lipoid-free can still act as antigen. The following experiment was undertaken to see how far this is true.

0,5 g of dried congenital syphilitic liver was pounded as finely as possible in an agate mortar, and then extracted for four days with several volumes of petrol. The petrol was then decanted, the residue allowed to dry, one part being then extracted with water and the other with alcohol. Neither of these extracts was coloured as they usually are, while the alcoholic extract gave only a slight opalescence when it was added to the saline solution. The power of these two extracts to act as antigene was compared with an alcoholic extract made from the same liver, but from which the lipoids had not been extracted. It was found that both the watery and the alcoholic extract made from the lipoid-free liver had considerable power as antigen, though they had considerably less power than the extract made in the same way from the liver before the lipoids were extracted, as is shown in the above table.

Table III.

Antigen	Syphilitic serum	Wassermann reaction
Alcoholic extract of petrol residue	0,1	++
	0,2	+++
	0,2	0
Watery extract of petrol residue	0,1	++
	0,2	+++
	0,2	0
Unextracted antigen	0,1	++++
	0,2	++++
	0,2	0

This, of course, must mean that there are substances, other than lipoids, in the syphilitic liver, which, in all probability, play an important part in the Wassermann reaction.

Another feature of the antigen is that, in certain instances, especially if it is dried, it loses to a considerable degree its power of fixing the alexine in presence of a syphilitic serum. One antigen, which originally was active in 0,2 c. c. of a watery extract, was found after a period of more than two years to have lost at least half its former power. This is probably due to the fact that during this time the dehydrated molecules

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

of the active bodies (lipoids, etc.) had become changed in some way so that they were no longer soluble in water. The loss of power is not so marked if an alcoholic extract is made. However, hydrolising agents, such as glycerine, produced only a slight increase in the power of the antigen. In the same way, I found extracts made with 10% of glycerine were very slightly stronger than the ordinary watery extract.

Experiment IV.

Experiments were also made to see what reaction injections of extracts of antigens elicited when injected into certain animals. Two rabbits were inoculated intraperitoneally with extracts made from congenital syphilitic liver, as follows; alcoholic extracts were made from ordinary dried antigen; the alcohol was then evaporated off, and the residue emulsified in normal saline. In this way, the injection of any albuminous material was prevented.

The results obtained were not satisfactory in so far that the serum of one of the rabbits (Table IV, "A"), even after three injections at intervals of a week, only possessed the power of fixing the complement to a considerable degree, but not completely; the serum of the other rabbit (Table IV, "B") showed this properties still less. Much stress cannot be laid on the first result, as the sera of some rabbits normally possess a slight anti-complement effect in the presence of syphilitic antigen. Perhaps, this method of extracting the antigen fails to extract in sufficient quantity the essential substances of the spirochaetes, such as the saline emulsions which Wassermann, Neisser and Bruck (20) used with such success in the case of monkeys.

Table IV, July, 1909.

	Reactions		
	0,2	0,1	0,5
1. Rabbit injected A.	++	+	0
2. Rabbit injected B.	+	0	0
3. Rabbit control	+	0	0
4. Rabbit control	0	0	0

Levaditi and Yamanouchi (10) are inclined to consider that the whole phenomenon of the Wassermann reaction is the result of a simple summation of the anti-complement effects of the lipoids in the antigen and those in the serum. Noguchi (14), on the other hand, has produced evidence to

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

show that there is no quantitative difference between the amount of lipoids present in normal and syphilitic sera, whether this is so or not, most agree that it is the lipoids that play the chief rôle, in the case of the antigen.

Experiment V.

The following experiment was made in order to ascertain whether any evidence could be obtained of any definite combination of a specific or selective nature between the antigen and syphilitic serum.

In a series of test tubes, varying quantities of antigen were placed with the same amount of complement, and the anti-complementary power of the antigen was tested in the usual way. In a second series of tubes, varying amounts of syphilitic serum were placed along whith a constant amount of complement, and the anti-complimentary power was tested. In a third series of tubes, the complete Wassermann reaction was made with different quantities of syphilitic serum, but with 0,1 c. c. of antigen constant.

Table V.

A. Anti-complementary power of antigen.

Antigen	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25
Complement 50 %	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Degree of inhibition of haemolysis	0	0	0	+++	++++ complete

Table VI.

B. Anti-complementary power of syphilitic serum.

Syphilitic serum	0,1	0,2	0,25	0,35	0,4
Complement	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Degree of inhibition of haemolysis	0	0	0	++	++++

Table VII.

C. Complete reaction.

Antigen	0,1	0,1	0,1	0,1
Syphilitic serum	0,05	0,1	0,2	0,25
Complement	0,1	0,1	0,1	0,1
Inhibition of haemolysis	++	++++	++++	++++

If the reaction in C. was a mere summation of effects, then the anti-complimentary effects of 0,1 c. c. of the syphilitic serum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

should be equal to 0,1 c. c. of antigen, but by looking at tables A and B, we see at once that this is not so, as it requires four times the amount of syphilitic serum to cause a complete inhibition of haemolysis, while only twice the amount of antigen is needed to produce a similar effect. This makes one inclined to think that there is some definite interaction between the active substances in the serum and those of the antigen.

Such a reaction as the above is can be explained most readily on physico-chemical grounds. The active substance in the syphilitic patient's serum, being present in the form of colloidal particles, reacts with the colloidal particles of the antigen to form by some physico-chemical reaction a complex which has a more powerful affinity for complement than has either of the reacting substances; but whether a precipitation occurs as part of the phenomenon or not is not of much importance. It, therefore, does not matter whether the substance in the syphilitic serum is secreted by the tissue cells as a defence against the invading micro-organism, or whether it is a degeneration product of the cells arising as the result of some ferment action; and besides, we do not know that the production of a substance in the later manner differs materially from what occurs in the former. The experiment of Simonelli, in which he showed that the emulsion of a rabbit's cornea, affected whith syphilitic keratitis, could be used as antigen, while a similar emulsion made from a normal cornea could not, tends to show that a syphilitic serum may possess, besides the substance which gives the Wassermann reaction, a specific syphilitic antibody.

In addition to the cases previously examined[1]) the following series may be added.

---

1) The following were the figures given in my article in the Lancet of May 20th, 1909, for 149 cases.

Primary syphilis	27 cases	20 positive	or 74,2 %
Secondary syphilis	92 cases	78 positive	or 84 %
Tertiary syphilis	17 cases	10 positive	or 58,9 %
Para syphilitics	9 cases	9 positive	
Congenital syphilis	4 cases	2 positive	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Primary syphilis. In this series, 10 cases were examined, of which 8 gave positive reactions, or 80 %; this figure is slightly higher than was obtained in a previous series. This is no doubt due to the cases being fewer in number.

Secondary syphilis. The important feature in these cases was that practically every case with definite lesions gave a positive reaction; in all, 52 cases were examined, and of these, 43 reacted positively, or 82,6 per cent. Of 21 cases of early secondary syphilis, all reacted positively. So that the actual period of the disease has a considerable influence on the reaction. The same must be said with regard to the influence of treatment; this, however, will be discussed later on.

Tertiary syphilis. Only 8 cases were examined, all of which had symptoms more or less recognisable as being of a syphilitic nature, and all gave a positive reaction. The sera from three cases of congenital syphilis with definite lesions reacted positively. Positive reactions were also obtained with the sera from a case of locomotor ataxia, and from a case of Charcot's disease. Besides the control sera examined, the sera of 5 cases of acute lobar pneumonia were examined; one gave a doubtful reaction, and all the others were negative. Bayly (1), however, found that 11 cases of acute pneumonia gave positive Wassermann reactions. The Wassermann reaction must be considered for all practical purposes as being a specific reaction; where the reaction fails from this point of view is in Yaws, Leprosy, and Sleeping Sickness. In the case of Yaws, Blumenthal (2), and Bruck and Stern (3) showed this disease could not be distinguished from syphilis by this reaction, while Eitner (5), Wechselmann and Meier (22), and Slatinéanu and Daniélopolu (19) have shown that above 80 % of Leprosy cases give the Wassermann reaction. In the case of sleeping sicknes, the observations of Hartch and Jakimoff (8), and Schilling and Hoesslin (17), show that in this disease a positive Wassermann reaction is usually present. In support of this it may be said that rabbits inoculated experimentally with trypanosomes develop a Wassermann reaction (Landsteiner, Müller,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

and Poetzl, 9). With regard to scarlet fever, it is now generally recognised that positive results are obtained only when too stroong or too old an antigen is used.

But the Wassermann reaction has already proved its great value, not only from a clinical or diagnostic point of view, but also from a pathological standpoint. The sera from several post-mortem cases were examined; amongst them were 6 cases of meso-aortitis, of which 5 gave positive reactions. This is very interesting, as these lesions have long been supposed to be of a syphilitic origin, though it has only been in the last year or two that the relationship of syphilis to these lesions has been firmly established, by the finding of the spirochaeta pallida in the lesion Schmorl (18), Reuter (16) and Wright and Richardson (23), and the presence of a positive Wassermann reaction in these cases (Fränkel and Much 6), and Citron (4).

The cases were as follows:

6 Aortic aneurysm, with meso-aortitis	5 positive
1 Fibrosis of testicle	positive
1 Fibrosis of liver (child)	positive
No spirochaetes found	
1 Fibrosis of spleen (child)	positive
1 Pemphigus (child)	negative
1 Valvular degeneration	positive
1 Marasmuus	negative

b) Influence of treatment on the Wassermann reaction.

Some time ago I said that no definite opinion could very well be given with regard to the influence of specific treatment in the Wassermann reaction, though the reaction in a considerable number of cases does appear to become less marked when the period of treatment has been completed, as in the majority of cases the reaction does not disappear even when we consider the patient has had sufficient treatment.

Several writers still doubt whether specific treatment has any influence at all, but, on the other hand, many are inclined to believe that treatment has a beneficial influence in a large number of cases. Citron (4) found that 81 % of

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

his untreated cases gave positive reactions, whereas 65 % of the treated cases reacted positively; Bruck and Stern found that 29,5 % of treated cases reacted positively, while Müller, who tested some 29 cases before and after treatment, found that 60 % showed no change in regard to the degree of reaction. Pürckhauer (15) after a careful examination of a large number of cases, stated that the percentage of negative results was proportional to the amount of treatment given.

The following conclusions are drawn from the whole series of cases examined by me up to the present time, the analysis including the cases previously published (12).

In all 38 cases of primary syphilis, have been examined, The results obtained, do not show any appreciable difference between the cases which had received a certain amount of treatment and those which had not been treated. This is what we might look for, as the treatment cannot be expected to effect much change in so short a period. The degree of the reaction in primary syphilis is, as I pointed out previously, dependent chiefly on the lenght of time the infection has lasted; in secondary syhilis, however, things are different as the following table of 160 cases show.

Statistics of secondary cases.

Stage	Treatment	No. of Cases	Positive	Negative	Percentage of positive results	Percentage in year groups
II.	None	19	18	1	95,0	1st year —91,5
	Irregular	11	9	2	81,8	
	1— 3 months	24	24	0	100,—	
	3— 6 „	27	23	4	84,2	
	6— 9 „	14	13	1	92.8	
	9—12 „	11	10	1	90,9	
	12—15 „	11	6	5	54,5	2nd year —55,8
	15—18 „	9	5	4	55,6	
	18—21 „	3	2	1	66,7	
	21—24 „	11	6	5	54,5	
	24 and over „	10	3	7	30,—	3rd year —30,—
	36 and over „	10	3	7	30,—	

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

The above table shows that there is a more decided falling off in the percentage of positive results obtained, the longer the cases have been under treatment. This diminution does not become marked till the second year of treatment has been entered on, after which a steady fall takes place, till by the end of the second year, the figure for positive results has fallen as low as 30 %. The percentage of positive results for the whole period of the first year of treatment is 91,5 %, that for the second year, 55,8 %, while afterwards, as we have seen, it is only 30 %. In the above table no discrimination is made between cases which have symptoms and those which have not. But between tho cases which were undergoing their first year of treatment and which possessed no symptoms, and those which had symptoms, there is practically no difference in the results; while if we take those latent cases which have been treated for periods varying from 18 months to 3 years, we find that of 19 such cases 3 reacted positively, or 21 %. It was also noted that if primary cases were put on mercury very early, the reaction, even after some months had elapsed since infection took place, never appeared to become a complete one.

Some of the cases under treatment were examined at intervals, but as, in most cases, the intervals were short, one could not expect much difference between the results obtained; and this is just what was the case.

Stage	Observation Number	Interval	Symptoms	Duration of infect.	Degree of Reaction	
					1st exam.	2nd exam.
II	207	5 months	Yes	14 months	++++	++++
II	45	7 „	Yes	9 „	++++	++++
II	243	2 „	Slight	5 „	++++	++++
II	206	6 „	Slight	7 „	++++	+++
II	193	7 „	No	9 „	++	++
III	217	6 „	No	7 years	+++	++
II	271	2 „	No	14 months	++++	++
III	104	9 „	Yes	11 years	++++	++++
III	206	6 „	Yes	9 months	++++	++++
II	145	2 „	Yes	6 „	+	+
II	56	5 „	Yes	5 years	++++	++++

++++ complete reaction, +++ partial reaction.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In order to determine whether a strict quantitative Wassermann test would throw any additiooal light, the sera of a good many of those cases were also examined quantitatively; 0,2 c. c., 0,1 c. c. and 0,05 c. c. of the serum was examined in a series of tubes for the reaction. Several methods have been devised by which it is possible to make a quantitative Wassermann reaction, some making use of varying amounts of complement (McKenzie, 11), others again varying both complement and antigen (Zeissler, 24). But if one uses the maximum amount of antigen, the simplest plan seems to be to vary the serum which is to be examined. This examination, however, does not give any more information than is obtained by using 0,2 c. c. of serum, and if the reaction is not complete, estimating the degree of haemolysis by means of a haemo-globinometer. This is probably due to the fact that a large number of cases of syphilis give a complete Wassermann reaction only when 0,2 c. c., or 0,1 c. c. of their serum is used, so that whenever a serum begins to lose some of its anti-complement effects this at once becomes apparent even when 0,2 c. c. of the serum is made use of in the test.

Table.

Quantitative examination of treated syphilis cases.

Stage	Observation Number	Duration of infection	Symptoms	Reaction			Result
				0,2	0,1	0,05	
II	323	3 years	No	±?	0	0	negative
II	324	2 „	No	±?	0	0	„
II	309	2 months	No	++	0	0	positive
II	311	8 „	Yes	++	0	0	„
II	312	9 „	Yes	++++	++	+	„
II	300	10 „	Yes	++++	++	0	„
II	301	2 years	No	++	+	0	„
II	297	10 months	No	++++	++++	—	„
II	296	2 years	No	++	+	0	„
II	295	2 „	No	++++	++	0	„
Cong. syph. [1])	285	4 months	Yes	++++	++++	++	„
III	276	5 years	No	++++	++++	++++	„
II	275	6 weeks	Yes	++++	++++	++	„
II	272	16 months	Yes	++	+	0	„
Cong. syph. [1])	170	4 „	Yes	++++	++++	++++	„

1) Untreated.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

It, therefore, appears that specific treatment does favourably influence the Wassermann reaction, but this change in the reaction does not become apparent before the second year of treatment has been entered on, and then only after all symptoms have been gone for some time. Of course, in a small number of cases one finds that the reaction disappears sooner than this, but again there are certain cases which have been well treated and in which the reaction persists even for years after all signs of the disease have been absent for a long time. I found that several such reactions as the above persisted in spite of renewed specific treatment. Another type very similar to the above, with regard to the persistence of the reaction in spite of treatment, is where the patient has had a very severe attack of the disease, but at the time of examination has no active symptoms, the only signs of his former infection being perhaps some slight paresis of certain muscles, or some such similar disability. Two such cases, which had undergone treatment persistently for several years, gave strong positive reactions. Yet another group resembling this type is that of those cases of congenital syphilis which continue to give the reaction for many years after all signs of any active disease have passed off. What the exact interpretation of these results may be is certainly not very clear. But, if the spirochaetes have been got rid of or have been rendered inactive by the specific treatment, of course, one may say that there is no longer anything present in the human organism to stimulate the production of anti-bodies, or that there is no longer any production of the fat ferment which causes the disintegration of the tissue cells, and to leads to the production of the active substance. The fact that cases treated as early in the disease as possible often do not develop a complete reaction supports these views, as in the one case only a small amount of antigen is present, while in the other there would never have been any great production of the ferment. On the other hand, the persistence of the reaction, in spite of vigorous treatment, is much more difficult to explain. Perhaps, the spirochaete, or some intermediate form, has accustomed itself to the antibodies secreted against it, or

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

to the specific medicament, as certain protozoa are known to have the power of doing. If the latter be true, then a change of the specific employed should be sufficient to effect a cure. But as we possess very little information as yet concerning the nature of the substance or substances in syphilitic serum which bring about the Wassermann reaction, it is perhaps a little premature to duscuss such points.

For clinical and pathological material, I have to express my great indebtedness to Dr. F. J. Smith and Mr. Russell Howard of the London Hospital, Dr. A. Malcolm Simpson of St. Peter's Hospital, and Dr. H. M. Turnbull, Pathological Institute, London Hospital. I must also thank Dr. Bulloch for his kindly interest and help during the course of the work.

Zusammenfassung.

1) Unter gewissen physikalischen Bedingungen verhalten sich die in syphilitischen Seris vorkommende aktive Substanz oder Substanzen nicht wie die Mehrzahl bekannter Antikörper.

2) Die komplementbindende Fähigkeit des Komplexes (Antigen + syphilitisches Serum) ist größer als die Summe der bindenden Fähigkeiten dieser zwei Substanzen einzeln genommen.

3) Praktisch betrachtet, gilt die Wassermannsche Reaktion als ein definitives Symptom der Syphilis.

4) Die antisyphilitische Behandlung soll möglichst rasch und aktiv angestellt werden, und zwar sobald als der Primäraffekt erkannt ist.

5) In der Mehrzahl der Fälle übt die antisyphilitische Behandlung einen ziemlich hohen Einfluß auf die Reaktion. Dieser Einfluß wird spät bemerklich, in dem zweiten Jahre der Behandlung, und tritt nur dann auf, wenn alle Symptome während einer ziemlich langen Zeit verschwunden sind.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Bibliography.

1) Bayly, The Lancet, 1909, Vol. 176, p. 1, 523.
2) Blumenthal, Zit. in Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 11, p. 572.
3) Bruck, C. and Stern, M., Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 11, p. 504.
4) Citron, J., Bericht über den XIV. Internationalen Kongress für Hygiene und Demographie, Berlin, Bd. 4, 1907, p. 101.
5) Eitner, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 20, p. 729.
6) Fränkel und Much, Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 12, p. 662.
7) Frouin, Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris, T. 65, 1908, p. 649.
8) Hartoch und Jakimoff, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 21, p. 753.
9) Landsteiner, R., Müller und Poetzl, Wiener klin. Wochenschr., 1907, No. 46, p. 1, 421.
10) Levaditi, C. and Yamanouchi, Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris, T. 60, 1909, p. 349.
11) Mc Kenzie, I., Journal of Pathology and Bacteriology, Vol. 13, 1909, p. 311.
12) Mc Intosh, The Lancet, 1909, Vol. 176, p. 1, 518.
13) Müller, R., Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 9, p. 282.
14) Noguchi, H., Journal of Experimental Medicine, Vol. 11, 1909, p. 84.
15) Pürchauer, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 14, p. 698.
16) Reuter, Zeitschr. f. Hyg., 1907, No. 54, p. 49.
17) Schilling und Hösselin, Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 33, p. 1, 422.
18) Schmorl, Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 6, p. 188.
19) Slatinéanu et Daniélopolu, Compt. rend. de la Soc. de Biol. Paris, T. 65, 1908, p. 347.
20) Wassermann, Neisser und Bruck, Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 19, p. 745.
21) Well und Braun, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 5, p. 151.
22) Wechselmann und Meier, Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 31, p. 1, 340.
23) Wright, J. H., and Richardson, Boston Medical and Surgical Journal, Vol. 160, 1909, p. 539.
24) Zeissler, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 44, p. 1968.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologischen und Bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalt in Czernowitz (Vorstand: Pros. Dr. H. Raubitschek).]

Ueber das Präzipitationsvermögen pflanzlicher Eiweißstoffe.

Von Dr. **M. Wilenko.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Januar 1910.)

Bei näherem Studium der Antikörper ist beobachtet worden, daß schon normale Sera die Fähigkeit haben, den Immunseris ähnliche Reaktionen auszulösen. Der Zusammenhang zwischen den Immunreaktionen und denen normaler Sera ist noch lange nicht geklärt. Auf Grund der Ehrlichschen Theorie wird angenommen, daß Antikörper physiologisch schon im normalen Tier vorhanden sind, die Immunisierung verursacht nur eine Vermehrung der vorhandenen Antikörper; demgegenüber stehen Beobachtungen anderer Forscher [R. Kraus (1), Landsteiner und Reich (2), P. Th. Müller (3)], die auf Grund ihrer Versuche zeigen konnten, daß prinzipielle Unterschiede zwischen normalen und Immunseris bestehen, die sich unter anderem in der größeren Spezifität und Affinität der Immunsera äußern. Es scheinen sich daher bei der Immunisierung neue Körper zu bilden, die im Wesen neue Eigenschaften aufweisen.

Es ist deshalb verständlich, daß das Studium der Sera normaler, unvorbehandelter Tiere von großem Interesse für die Immunitätslehre ist. Die Arbeiten über biologische Normalreaktionen betreffen hauptsächlich das Gebiet der Hämolyse und Agglutination. Viel weniger wurde die Normalpräzipitation studiert. Niederschlagsbildungen bei Vermengung von Normalseris und Bakterienfiltraten sind bisnun nur von Hocke (26) in manchen Fällen beschrieben worden. Das häufige Ausbleiben der Reaktion führt Kraus auf den geringen Gehalt der präzipitablen wie auch präzipitinogenen Substanz der Komponenten zurück. Dagegen gelang es

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Kraus (4) zuerst, Niederschläge bei Vermengung zweier Normalsera zu beobachten. Hühnerserum und Taubenserum, Ziegenserum mit Kaninchenserum und Hundeserum geben manchmal Niederschläge. Ebenso konnte Noguchi (5) an Kaltblüterseris zeigen, daß heterologe Fischsera, in bestimmter Menge zusammengebracht, Präzipitate geben. Gelegentlich meiner Untersuchungen über Kotpräzipitine habe ich beobachtet, daß normale Menschensera, die längere Zeit gelagert haben, mit normalem Kaninchenserum zuweilen Niederschläge bilden.

Vielleicht gehört auch im engeren Sinne in das Gebiet der Normalpräzipitation die Erscheinung, daß viele Phytotoxine mit Normalseris unter Niederschlagsbildung reagieren. Kraus (6) war auch der erste, der den Einfluß von pflanzlichen Eiweißkörpern auf Normalsera beobachtet hat. Nach Kraus hat Ricin die Fähigkeit, manche Serumarten zu präzipitieren. Gelegentlich dieser Versuche konnte Kraus zeigen, daß nur Sera derjenigen Tiere mit Ricin Niederschläge geben, deren Blutkörperchen durch Ricin agglutiniert werden [eine Beobachtung, die auch von v. Eisler und v. Portheim (12) gemacht wurde]. Diese Beobachtung ist nur die weitere Bestätigung seiner Auffassung über die Präzipitationsvorgänge; und so konnte Kraus (7) bei seinen Untersuchungen über Bakterienpräzipitine (Bact. coli) behaupten, daß, „wo spezifische Agglutination, dort spezifische Niederschläge". Niederschläge beim Mischen von Serum und Ricin oder Abrin hat auch Jakoby (8) beobachtet. In den letzten Jahren finden wir nur zerstreute Angaben über Niederschlagsbildung in Normalseris durch Phytalbumine. So beobachtet Hellin (9) Niederschläge bei der Mischung Pferdeserum + Abrin, während es Lau (10) nicht gelungen ist, in Ascitesflüssigkeit mit Ricin, Abrin oder Krotin Präzipitate hervorzurufen. Die Ursache der negativen Reaktion lag vielleicht in Verwendung von nicht entsprechenden Mengen beider Flüssigkeiten, da ein positiver Ausfall der Reaktion wesentlich von den verwendeten Quantitäten abhängt, wie dies auch aus den nachfolgenden Tabellen hervorgeht. Landsteiner und Raubitschek (11), die die hämagglutinierende Eigenschaft verschiedener Pflanzenextrakte (Bohnen, Erbsen, Linsen, Wicken) fanden, stellten ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

legentlich auch Präzipitationsversuche mit mehreren Seris auf; so gab Bohnenextrakt in der Menge 1,0 mit Pferdeserum resp. Hühnerserum stärkere oder schwache Niederschläge, eventuell Trübungen bis zur Verdünnung der Sera 1:10. In ähnlicher Weise konnten v. Eisler und v. Portheim (12) die präzipitierende Eigenschaft von Datura stramonium nachweisen.

Systematische Untersuchungen über das Präzipitationsvermögen der Phytalbumine wurden bisnun nicht vorgenommen. Bei dem großen theoretischen Interesse, daß das Phänomen einer Normalpräzipitation in sich birgt, habe ich auf Anregung des Herrn Pros. Dr. Raubitschek diese Frage näher studiert. Tabelle I gibt eine genaue Uebersicht über das Verhalten einiger bekannten Phytagglutinine zu verschiedenen Seris. Alle verwendeten Sera gaben Niederschläge mit Ricin, Abrin, Bohnen und Krotin. Am stärksten, sowie auch in den größten Verdünnungen reagieren Vogelsera (Enten-, Gans-, Hühnerserum), wenn auch eine Spezifität in gleicher Weise, wie bei der Hämagglutination, bei der Präzipitation kaum zu beobachten ist. Andererseits reagiert am schwächsten das Kaltblüterserum (Karpfen). Die Zeit des Entstehens des Präzipitates war verschieden. Bei einigen Seris — und hier haben wieder den Vorrang die Vogelsera — trat eine Trübung schon nach 2—3 Minuten auf, während kurze Zeit später ein deutlicher Niederschlag zu beobachten war. Bei anderen Seris wieder bedurfte es längere Zeit, bis ein Niederschlag sich gebildet hat.

Am auffallendsten ist die Tatsache, daß bei Verwendung von unverdünntem Serum bei manchem Hämagglutinin kein Präzipitat entsteht (Hemmung der Niederschlagsbildung durch das Serum), trotzdem der Niederschlag im Serum fast unlöslich ist. Die Behauptung Eisenbergs (22) für die Immunpräzipitation, daß der Ueberschuß des Präzipitinogens das entstandene Präzipitat auflöst, konnte ich bei Normalpräzipitinen nicht bestätigen, da eine Auflösung des gewaschenen Präzipitates nur teilweise eintritt, während dieselbe Serummenge, beim Versuch angewendet, die Niederschlagsbildung aufhebt.

Es ist interessant, bei Krotin auf die Inkongruenz der Präzipitation und Agglutination hinzuweisen. Wie von mehreren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Verw. Serum	Ricin			Abrin			Bohnen			Krotin			Mais			Hafer		
Menschs.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	trüb	klar	klar	f.Nied.	trüb	klar	d. trüb	klar	klar	Nied.	f.Nied.	l. trüb	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0,1	Nied.	Nied.	trüb	Nied.	d. trüb	„	„	„	„	f.Nied.	trüb	klar	klar	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	trüb	klar	f.Nied.	„	„	Nied.	trüb	„	l. trüb	klar	„	„	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„	f.Nied.	l. trüb	„	klar	„	„	„	„	„	„	„	„
Ziegenser.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	d. trüb	l. trüb	klar	klar	klar	trüb	klar	klar	Nied.	d. trüb	l. trüb	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0,1	„	„	„	trüb	„	„	Nied.	l. trüb	l. trüb	f.Nied.	trüb	klar	f.Nied.	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	„	„	Nied.	trüb	„	„	„	„	trüb	klar	„	klar	„	„	„	„	„
0,012	f.Nied.	l. trüb	klar	„	„	„	f.Nied.	klar	klar	„	„	„	„	„	„	„	„	„
Schweins.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	Nied.	trüb	klar	klar	klar	klar	klar	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	trüb	klar	klar
0,1	Nied.	f.Nied.	„	f.Nied.	l. trüb	„	Nied.	trüb	„	f.Nied.	l. trüb	„	f.Nied.	klar	„	klar	„	„
0,025	„	d. trüb	l. trüb	Nied.	„	„	f.Nied.	klar	„	klar	klar	„	klar	„	„	„	„	„
0,012	trüb	klar	klar	f.Nied.	klar	„	klar	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
Schafser.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	Nied.	f.Nied.	klar	klar	klar	st. Nd.	d. trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	klar	klar
0,1	Nied.	„	„	Nied.	„	„	Nied.	trüb	„	d. trüb	klar	„	klar	klar	„	klar	„	„
0,025	f.Nied.	trüb	klar	„	trüb	„	f.Nied.	klar	„	klar	„	„	„	„	„	„	„	„
0,012	klar	klar	„	f.Nied.	klar	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
Kan.-Ser.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	f.Nied.	trüb	klar	klar	klar	klar	klar	klar	Nied.	trüb	klar	st. Nd.	d. trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0.1	„	„	„	Nied.	trüb	„	Nied.	trüb	„	d. trüb	klar	„	f.Nied.	trüb	„	trüb	klar	„
0,025	„	trüb	klar	„	„	„	„	„	„	klar	„	„	trüb	klar	„	klar	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	klar	„	„	„	„	„
0,006	f.Nied.	klar	„	f.Nied.	klar	„	f.Nied.	klar	„	„	„	„						
Pferdeser.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	klar	klar	klar	trüb	klar	klar	f.Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0,1	Nied.	trüb	„	Nied.	d. trüb	„	Nied.	„	„	trüb	klar	„	f.Nied.	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	klar	„	„	„	„	„	„	„	klar	„	„	„	„	„	„	„	„
0,012	f.Nied.	„	„	f.Nied.	klar	„	f.Nied.	klar	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Verw. Serum	Ricin			Abrin			Bohnen			Krotin			Mais			Hafer		
Rinders.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	d. trüb	trüb	klar	klar	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	l. trüb	klar
0,1	Nied.	„	„	Nied.	Nied.	f.Nied.	„	„	„	trüb	klar	„	trüb	klar	„	klar	klar	„
0,025	f.Nied.	l. trüb	klar	„	f.Nied.	trüb	f.Nied.	klar	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0,012	klar	klar	„	f.Nied.	trüb	klar	trüb	„	„	klar	„	„	klar	„	„	„	„	„
Hühners.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	Nied.	f.Nied.	Nied.	f.Nied.	d. trüb	Nied.	d. trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	l. trüb	klar
0,1	„	„	„	„	trüb	klar	„	„	„	d. trüb	klar	„	trüb	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	„	„	„	„	„	„	„	„	trüb	„	„	klar	„	„	„	„	„
0,012	Nied.	„	„	f.Nied.	l. trüb	„	„	„	„	klar	„	„	„	„	„	„	„	„
0,006	„	trüb	„	„	„	„	f.Nied.	l. trüb	„	„	„	„						
Entenser.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	Nied.	f.Nied.	Nied.	d. trüb	l. trüb	st. Nd.	d. trüb	trüb	st. Nd.	f.Nied.	trüb	Nied.	trüb	klar	Nied.	l. trüb	klar
0,1	„	f.Nied.	d. trüb	„	„	„	Nied.	„	„	Nied.	d. trüb	l. trüb	trüb	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	„	„	„	trüb	klar	„	„	„	trüb	klar	klar	klar	„	„	„	„	„
0,012	Nied.	„	„	„	„	„	f.Nied.	klar	klar	klar	„	„						
0,006	f.Nied.	trüb	klar	f.Nied.	klar	„												
Gansser.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	d. trüb	klar	Nied.	trüb	klar	Nied.	d. trüb	trüb	Nied.	d. trüb	trüb	Nied.	d. trüb	trüb	Nied.	klar	klar
0,1	„	„	„	„	„	„	„	„	„	trüb	klar	klar	trüb	klar	klar	klar	„	„
0,025	Nied.	l. trüb	„	„	klar	„	„	„	klar	klar	„	„	klar	„	„	„	„	„
0,012	„	klar	„	f.Nied.	„	„	f.Nied.	„	„				„	„	„			
0,006	f.Nied.	„	„				„	klar	„									
Karpfens.	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	f.Nied.	trüb	klar	klar	klar	klar	klar	klar	klar	f.Nied.	trüb	klar	f.Nied.	l. trüb	klar	f.Nied.	klar	klar
0,1	klar	klar	„	Nied.	trüb	„	Nied.	trüb	„	klar	klar	„	klar	klar	„	klar	„	„
0,025	„	„	„	f.Nied.	klar	„	f.Nied.	klar	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Seiten beobachtet wurde, wirkt Krotin auf Kaninchenblutkörperchen nur hämolytisch, ohne sie zu agglutinieren. Das Präzipitationsvermögen gegen Kaninchenserum ist trotzdem — ähnlich dem anderer Phytalbumine — vorhanden[1]).

Es erschien deshalb aussichtsvoll, zu untersuchen, ob nicht noch andere Eiweißkörper pflanzlicher Provenienz mit Tierseris unter Niederschlagsbildung reagieren. Zu diesem Zwecke wurden Extrakte aus Hafer und Mais in ähnlicher Weise hergestellt wie es Landsteiner und Raubitschek (11) beschrieben haben. Die Extrakte reagierten neutral. Die üblichen Eiweißproben zeigten im filtrierten Extrakt das Vorhandensein von Eiweißkörpern an. Auch die Mais- und Haferextrakte reagierten — wie aus Tabelle I hervorgeht — mit allen Seris unter Niederschlagsbildung; allerdings scheinen sie schwächer aktiv zu sein. Es wäre daher möglich, daß es sich um eine allgemeine biologische Reaktion handelt, die sich darin äußert, daß pflanzliche Eiweißkörper, mit tierischen zusammengebracht, unter Niederschlagsbildung reagieren. Wenn es mit einem oder dem anderen Samenextrakt zuweilen nicht gelingt, in einem Serum Niederschläge hervorzurufen, so dürfte das dem geringen Eiweißgehalte des Extraktes — und somit der verwendeten Methodik, wie ich mich überzeugen konnte — zuzuschreiben sein.

Ueberdies geht aus diesen Versuchen hervor, daß den Eiweißkörpern eine wichtige Rolle beim Zustandekommen der Reaktion zufällt[2]). Es war deshalb naheliegend auch andere tierische Eiweißkörper in demselben Sinne zu prüfen. Zu diesem Zwecke wurde Hämoglobin (selbst dargestellt, sowie ein Merckses Präparat), Albumen aus Menschenblut und Eiern (Merck) geprüft. Es traten, wenn auch nur in schwachen Verdünnungen, Niederschläge auf.

---

1) Demnächst soll auf dieses Phänomen von Dr. Raubitschek und mir näher eingegangen werden.

2) Die Ansicht Elfstrands, daß der Alkaligehalt des Serums die Reaktion verursacht, steht mit diesen Versuchen nicht im Einklang. Auch den Niederschlag als bakterielle Trübung zu betrachten, entspricht nicht den Tatsachen, zumal da sich der Niederschlag oft in einigen Minuten bildet und die Kontrollen stets klar bleiben.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle II.

	Ricin	Abrin	Bohnen	NaCl	
Albumen aus Blut	1 ccm	1 ccm	1 ccm		
1-proz. Lösung					
1,0	Nied.	Nied.	Nied.	klar	Phytalbumen + NaCl = klar
0,1	fein. Nied.	„	Trübung	„	
0,025	klar	deutl. Sp.	klar	„	
0,006	„	Spuren	„	„	
Albumen aus Eiern	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	
1-proz. Lösung					
1,0	fein. Nied.	Nied.	Nied.	klar	
0,1	klar	klar	st. Trüb.	„	
0,015	„	„	leichte Tr.	„	
Hämoglobin (Merck)	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	
1-proz. Lösung					
1,0	Nied.	Nied.	Nied.	klar	
0,1	klar	klar	klar	.	
0,025	„	„	„	.	

Es war nun interessant zu eruieren, wie sich Eiweißabbauprodukte (Albumosen) gegenüber Phytalbuminen verhalten. Zur Verwendung kam Pepton Witte in 10-proz. Lösung mittels Lackmus auf neutrale Reaktion eingestellt. Es ist mehrfach gelungen, Präzipitate zu erhalten[1]).

Eine weitere Tatsache, für die eine Erklärung noch fehlt, ist eine Niederschlagsbildung bei Vermengung zweier Phytalbumine.

Tabelle III.

	Ricin 1 ccm	Abrin 1 ccm	Mais 1 ccm	
Bohnen 1 ccm	Nied.	Nied.	klar	andere Phytalbumine, zusammengemischt, bleiben klar.
Ricin 1 ccm	klar	klar	Nied.	

Ich habe auch die Komplementablenkungsmethode zur Bestätigung der Präzipitatbildung herangezogen. Wie aus

1) Inwieweit diese Beobachtung mit der Affinität, die die Phytalbumine zu Peptonpräparaten überhaupt zeigen [Landsteiner und Raubitschek (13), Raubitschek (14)], in einem engeren Zusammenhang zu bringen wäre, müßten weitere Untersuchungen lehren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Tabelle IV hervorgeht, absorbiert tatsächlich Mais und Ricin mit Meerschweinchenserum zusammengebracht Komplement. Diese Versuche stehen in vollem Einklang mit Beobachtungen von Landsteiner und Stankovic (15), die gezeigt haben, daß Rinderserum mit Abrin vermengt die Fähigkeit gewinnt, Komplement zu absorbieren. Der enge Zusammenhang zwischen Niederschlagsbildung und Komplementablenkung, der bei der spezifischen Präzipitation von Gengou (16) sowie von Moreschi (17) beobachtet wurde, kommt auch bei Normalpräzipitinen zum Vorschein.

Tabelle IV.

Komplementablenkungsversuch.

		Entnommene Menge	Ambozeptor	Hammelblut 5-proz.	Resultat
1 ccm Ricin + 1 ccm Meerschweinchenserum	Zwei Stunden bei 37°	0,2	0,005	1,0	Ablenkung
1 ccm Ricin + 0,2 ccm Meerschweinchenserum		0,6	0,005	1,0	„
1 ccm Ricin + 1 ccm phys. NaCl		0,2	0,005	1,0	keine Lyse
1 ccm Ricin + 0,2 ccm phys. NaCl		0,6	0,005	1,0	„ „
1 ccm Maisextrakt + 1 ccm Meerschweinchenserum		0,2	0,005	1,0	Bindung
1 ccm Maisextrakt + 0,2 ccm Meerschweinchenserum		0,6	0,005	1,0	„
1 ccm Maisextrakt + 1 ccm phys. NaCl		0,2	0,005	1,0	keine Lyse
1 ccm Maisextrakt + 0,2 ccm phys. NaCl		0,6	0,005	1,0	„ „
1 ccm Ricin		—	—	1,0	„ „
1 ccm Maisextrakt		—	—	1,0	„ „
1 ccm phys. NaCl + 1 ccm Meerschweinchenserum		0,2	0,005	1,0	Hämolyse
1 ccm phys. NaCl + 0,2 ccm Meerschweinchenserum		0,6	0,005	1,0	„

Die Menge des gebrauchten Ambozeptors entsprach der zweifach komplett lösenden Dose. Das Meerschweinchenserum wurde sowohl zur Reaktion mit Ricin als auch als Komplementträger verwendet. Demnach entspricht die entnommene Menge in allen Röhrchen 0,1 Komplement. Alle Röhrchen waren auf gleiches Volumen bis 3 ccm mit phys. NaCl gefüllt. Die Beobachtungszeit dauerte 2 Stunden Brutkammer und die Nacht hindurch im Eiskasten.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

An dieser Stelle erscheint es nicht unpassend auf Hemmungen, die ich bei Normalpräzipitinen beobachtet habe und auf die schon früher hingewiesen wurde, näher einzugehen; in mancher Hinsicht vielleicht sind sie den Hemmungen bei Immunpräzipitinen ähnlich. Bei Immunpräzipitinen wird im allgemeinen eine spezifische und nicht spezifische Hemmung unterschieden. Die spezifische Hemmung kann auf zweifache Weise entstehen, entweder durch Zusatz eines bei 80° C erhitzten Immunserums zur Mischung Antigen-Antikörper oder durch Ueberschuß der präzipitinogenen Substanz. Die Hemmung im ersten Falle führen Kraus und Pirquet (18) auf Grund ihrer Untersuchungen über Bakterienpräzipitine auf Präzipitoide zurück. Nach den genannten Autoren soll nämlich beim Erwärmen von Immunserum das Präzipitin die ergophore Gruppe verlieren, während die haptophore Gruppe erhalten bleibt. Diese veränderten Präzipitine — Präzipitoide — zeichnen sich durch größere Affinität zur präzipitinogenen Substanz aus als das aktive Immunserum, und besetzen die Rezeptoren der präzipitinogenen Substanz.

Auch Müller (19) zeigte in seinen Versuchen mit Laktoserum eine hemmende Wirkung des längere Zeit auf 70° erhitzten Laktoserums. Er behauptet — ähnlich Kraus und Pirquet — daß die zymophore Gruppe im Sinne der Ehrlichschen Theorie verloren geht, während die haptophore Gruppe erhalten bleibt und sich mit dem Präzipitinogen verbindet. Pick (20) dagegen behauptet, daß beim Erwärmen des Immunserums eine neue koagulinhemmende Substanz unabhängig vom Koagulin entsteht. In der letzten Zeit beschäftigten sich Welsh und Chapmann (21) mit Hemmungsvorgängen durch erhitztes Immunserum. Sie immunisierten Kaninchen mit Hühner-, Straußeiweiß und Pferdeserum und gewannen so Immunsera, die nach 30 Minuten langen Erhitzen auf 75° hemmende Eigenschaften aufwiesen; 0,03 inaktiven Serums hemmt die Wirkung von 0,1 ccm unerhitzten Serums. Sera, die 10 Minuten auf 80° oder 5 Minuten auf 100° erhitzt waren, verlieren ihre hemmende Eigenschaft. Die Temperatur von 60° beeinträchtigt die Wirkung des Serums in keiner Weise. Nach diesen Autoren wäre die Hemmung spezifisch. Ein erhitztes Antiserum hat die Fähigkeit, das Präzipitat zu lösen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Theoretisch betrachten die Autoren die Hemmung als Ausdruck einer spezifisch lösenden Kraft auf die Substanz, die sonst als Präzipitat erscheinen würde. Die Hemmung durch Ueberschuß des Präzipitinogens führen die einen auf die Auflösung des entstandenen Niederschlages zurück, während andere Autoren direkt eine hemmende Wirkung der präzipitinogenen Substanz zuschreiben wollen.

Auch die zweite Gruppe unspezifischer Hemmungen bei Immunpräzipitinen ist beobachtet worden. Der Unterschied zwischen spezifischen und nicht spezifischen Hemmungen lag in der größeren Menge des verwendeten normalen Serums, während das veränderte Immunserum schon in geringer Menge die Niederschlagsbildung verhinderte.

Halban und Landsteiner (25) sahen bei Immunseris eine Hemmung seitens normaler Sera, und zwar wirkt hemmend nicht nur jenes Serum, das zur Präzipitation gelangt, sondern auch heterologes Normalserum. Eine Erklärung dieses Phänomens liegt nicht vor. Wie aus nachstehender Tabelle V hervorgeht, besteht ein prinzipieller Unterschied zwischen

Tabelle V.

Hemmungsversuche.

Kaninchenserum	Ricin	Resultat
0,1	60° 1ʰ erhitzt 0,5	Nied.
0,1	80° 10′ erhitzt 0,5	klar
0,1	100° 5′ erhitzt 0,5	klar
0,1	80° 10′ erhitzt + aktiv 0,5 0,5	Nied.
0,1	100° 5′ erhitzt + aktiv 0,5 0,5	Nied.

Immunpräzipitin und Normalpräzipitin darin, daß es nicht gelingt, durch Erhitzen sowohl des Serums wie auch des Phytalbumins demselben eine niederschlagshemmende Wirkung zu verleihen. Mit dem Verlust der fällenden Eigenschaft verliert das Phytalbumin auch jeglichen Einfluß auf den Verlauf der

Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Reaktion und wird zu einem inaktiven Körper, dessen Anwesenheit die Reaktion in keiner Weise beeinträchtigt (Tabelle VI und VII).

Tabelle VI.

	Zeit der Erhitzung des Serums	Temperatur	Ricin	Abrin	Bohnen	Resultat
Hühnerser.						
0,01	$^1/_2$ h	60°	1,0	.	.	Niederschlag
0,01	$^1/_2$ h	60°	.	.	1,0	„
0,01	1 h	60°	1,0	.	.	„
0,01	1 h	60°	.	.	1,0	„
0,01	$^1/_2$ h	80°	1,0	.	.	„
0,01	$^1/_2$ h	80°	.	.	1,0	„
0,01	5′	100°	1,0	.	.	„
0,01	5′	100°	.	.	1,0	„
Entenserum						
0,01	1 h	60°	1,0	.	.	„
0,01	1 h	60°	.	1,0	.	„
0,01	$^1/_2$ h	80°	1,0	.	.	„
0,01	$^1/_2$ h	80°	.	1,0	.	„
0,01	5′	100°	1,0	.	.	„
0,01	5′	100°	.	1,0	.	„
Menschenser.						
0,01	1 h	60°	1,0	.	.	„
0,01	1 h	60°	.	1,0	.	„
0,01	$^1/_2$ h	80°	1,0	.	.	„
0,01	$^1/_2$ h	80°	.	1,0	.	„
0,01	5′	100°	1,0	.	.	„
0,01	5′	100°	.	1,0	.	„

Tabelle VII siehe p. 102.

Die Hemmungen bei Normalpräzipitinen kommen nur zustande durch Ueberschuß des konzentrierten, erst in größeren Verdünnungen reagierenden Serums (s. Tab. I), wie auch durch Zusatz eines anderes Serums oder einer anderen Substanz, z. B. Pepton, welche Stoffe mit dem zur Reaktion verwendeten Phytalbumin in entsprechenden Mengen selbst nicht reagieren. Die Hemmung ist für jedes Phytalbumin in gewissem Sinne charakteristisch. Die Erklärung der Hemmung ist nicht ganz sicher. Da eine Auflösung des Niederschlages durch Ueberschuß des Serums bei Normalpräzipitinen kaum in Betracht kommt, so wäre möglich, daß die hemmende Substanz auf irgend eine Weise den pflanzlichen Eiweißkörper verändert, daß er mit dem Serum nicht in eine Reaktion treten kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Hemmungsversuche.

Hemmende Substanz	Serum	Bindungszeit	Phytalbumin	Resultat	Kontrollen
10-proz. Peptonlös.	Hühnerserum	1h bei 37°	Ricin		1) 0,1 Hühnerser. + 1,0 Ricin = starker Nied.
1,0	0,1	dgl.	1,0	klar	2) 1,0 Pepton + 0,1 Hühn.-S. = klar
0,5	0,1	„	1,0	„	3) 0,1 „ + 0,1 „ = „
0,1	0,1	„	1,0	Nied.	4) 1,0 Ricin + 1,0 Pepton = klar
Pferdeserum	Hühnerserum		Bohnen		1) 1,0 Pf.-S. + 1,0 Bohnen = f. Nied.
1,0	0,1	„	1,0	f. Nied.	2) 1,0 „ + 1,0 Hühn.-S. = klar
0,5	0,1	„	1,0	Nied.	3) 0,1 Hühnerser. + 1,0 Bohnen = starker Nied.
0,2	0,1	„	1,0	st. Nied.	
0,1	0,1	„	1,0	st. Nied.	
10-proz. Peptonlös.	Entenser.		Ricin		
1,0	0,025	„	1,0	klar	
0,5	0,025	„	1,0	„	
0,1	0,025	„	1,0	Nied.	
Pferdeserum	Entenser.		Ricin		1) 0,025 Entenser. + 1,0 Ricin = Nied.
1,0	0,025	„	1,0	klar	2) 1,0 Pferdeser. + 1,0 Ricin = klar
0,5	0,025	„	1,0	„	
0,2	0,025	„	1,0	Nied.	
0,1	0,025	„	1,0	„	
			Abrin		1) 1,0 Pferdeser. + 1,0 Abrin = Trübung
1,0	0,025	„	1,0	Trübung	
0,5	0,025	„	1,0	„	
0,2	0,025	„	1,0	„	
0,1	0,025	„	1,0	Nied.	
Kaninchenserum	Hühnerserum		Bohnen		1) 1,0 Kan.-S. + 1,0 Bohnen = klar
1,0	0,1	„	1,0	klar	2) 0,1 Hühnerserum + 1,0 Bohnen = Nied.
0,5	0,1	„	1,0	„	
0,1	0,1	„	1,0	Nied.	
Pferdeserum	Rinderser.		Ricin		1) 1,0 Rinderser. + 1,0 Ricin = Nied.
1,0	1,0	„	1,0	klar	2) 1,0 Pferdeser. + 1,0 Ricin = klar.
0,5	1,0	„	1,0	„	
0,1	1,0	„	1,0	Nied.	

Zusammenfassung.

1) Samenextrakte reagieren in bestimmten Mengenverhältnissen mit Eiweißkörpern tierischer Provenienz unter Niederschlagsbildung und Komplementablenkung.

2) Auch heterologe Phytalbumine bilden, in bestimmten Mengen gemischt, zuweilen Niederschläge.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Das auf 80° erhitzte Phytalbumin verliert die Fähigkeit Niederschläge zu bilden, ohne hemmende Wirkung zu gewinnen, während ein Ueberschuß des Serums eine hemmende Wirkung aufweist.

4) Die Eigenschaft tierischer Sera, mit Phytalbumine unter Niederschlagsbildung zu reagieren, wird auch durch höhere Temperaturen nicht geschädigt.

Literatur.

1) Kraus, R., Ueber ein akut wirkendes Hämotoxin. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, p. 488.
2) Landsteiner, K., und Reich, M., Ueber Unterschiede zwischen normalen und durch Immunisierung entstandenen Stoffen des Blutserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 1905, p. 712.
3) Müller, P. Th., Weitere Affinitätsstudien über Agglutinine. Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 1908, p. 248.
4) Kraus, Ueber spezifische Niederschläge. In Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 4.
5) Noguchi, The interaction of the blood of cold blooded animals with reference to haemolysis, agglutination and precipitation. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, No. 5, p. 362.
6) Kraus, Zur Theorie der Agglutination. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 23, 1902.
7) Kraus, Ueber diagnostische Verwertbarkeit der spezifischen Niederschläge. Wien. klin. Wochenschr., 1901, No. 29.
8) Jakoby, Ueber Ricinimmunität. Hofm. Beitr. zur phys. Chemie u. Path., 1901.
9) Hellin, zit. nach Lau.
10) Lau, K., Ueber vegetabilische Blutagglutination. Dissertation, Rostock 1901.
11) Landsteiner, K., und Raubitschek, H., Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, p. 660.
12) Eisler, M. v., und v. Portheim, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Orig., Bd. 1, p. 297.
13) Landsteiner und Raubitschek, Biochem. Zeitschr., Bd. 15.
14) Raubitschek, H., Zur Kenntnis der Immunantiphytalbumine. Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 50.
15) Landsteiner und Stankovic, Ueber Bindung von Komplement durch suspendierte und kolloidgelöste Substanzen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, 1906, p. 353.
16) Gengou, Sur les sensibilisatrius des sérums act. contre les subst. albumin. Annal. Pasteur, 1902.
17) Moreschi, Zur Lehre der Antikomplemente. Berlin. klin. Wochenschr. 1905, p. 118; 1906, p. 100.
18) Kraus und Pirquet, Weitere Beiträge über spezifische Niederschläge, Centralbl. f. Bakt., 1902, No. 5, p. 60.

Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

19) Müller, P. Th., Vergleichende Studien über die Gerinnung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 7, p. 272.
20) Pick, Hofm. Beitr. zur phys. Chemie, 1901.
21) Welsh, D. A., and Chapman, zit. nach Ref. der Zeitschr. f. Immunitätsf. und exper. Ther., 1909, 20. März.
22) Eisenberg, P., Beiträge zur Kenntnis spezifischer Niederschläge. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 1902, p. 773.
23) Garis, Ueber die Untersuchung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Berlin. klin. Wochenschr., 1908, p. 359.
24) Kowarski, Ueber den Nachweis von pflanzlichem Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr., 1901, p. 443.
25) Halban und Landsteiner, Münch. med. Wochenschr., 1902, p. 473.
26) Hocke, Ueber Bakterienpräzipitation durch normale Sera. Wien. klin. Wochenschr., 1907, No. 12.
27) Wienhaus, Zur Biochemie des Phasins. Biochem. Zeitschr., Bd. 13, 1909.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Serotherapeutischen Institut in Mailand (Vorstand: Prof. S. Belfanti).]

Aktive Anaphylaxie durch Bakterienpräparate.

Von Dr. **Emilio Orsini.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Januar 1910.)

Die Reaktion tuberkulöser Organismen auf Tuberkulin, über welche zuerst Koch (1) berichtet hat und die in den verschiedenen Tuberkulinreaktionen (hypodermische Einführung, Ophthalmoreaktion nach Wolf-Eisner und Calmette, Cutisreaktion nach v. Pirquet) zu diagnostischen Zwecken Anwendung fand, kann als das zuerst bekannte Beispiel von Ueberempfindlichkeit betrachtet werden und wurde in der Folge von Strauss und Gamaleia, von Courmont, Babes und Proca eingehend studiert (2). Richet hingegen schien anzunehmen, es bestehe ein Unterschied zwischen dieser Art von Ueberempfindlichkeit und dem gewissen Giften eigenen Vermögen, die Empfindlichkeit des Organismus ihrer Wirkung gegenüber zu verstärken anstatt zu vermindern, und er erteilte jener letzteren Eigenschaft den Namen „Anaphylaxie (Gegenteil von Schutz).

Obgleich Richet die nach Einführung von Tuberkulin bei tuberkulösen Tieren auftretenden Symptome auf Ana-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

phylaxie zurückführte, so glaubte er annehmen zu müssen, daß in diesem Falle das Phänomen durch das Vorhandensein lebender Bacillen kompliziert werde, und er bezeichnet mit dem Ausdruck einfache Anaphylaxie ausschließlich das Vermögen des löslichen Giftes, im Organismus, in den dasselbe bereits ein erstes Mal eingeführt wurde, eine schwere Intoxikation herbeizuführen (3).

Die Ueberempfindlichkeit der tuberkulösen Individuen auf Tuberkulin wird jedoch nunmehr im allgemeinen als anaphylaktisches Phänomen angesprochen. Wenn aber diese Art von Ueberempfindlichkeit eingehend studiert und anerkannt worden ist, so wird hingegen nicht von allen Seiten angenommen, daß das Tuberkulin auch den gesunden Organismus gegen eine Reinjektion der gleichen Substanz überempfindlich zu machen imstande ist, so daß das Problem, trotz der neueren experimentellen Untersuchungen und klinischen Beobachtungen, welche eine endgültige Lösung zu bringen scheinen, immerhin noch lebhaft umstritten wird.

Calmette, Petit und Breton (4) bemerkten, daß die Einführung einer geringen Dosis Tuberkulin in die Randader des Ohres die gesunden Kaninchen gegen eine 16 Stunden später erfolgte Einträufelung von Tuberkulin sensibilisiere. Nach einem Zeitraum von 48 Stunden verschwindet die Sensibilisierung und es unterbleibt dieselbe auch bei Anwendung großer Dosen Tuberkulin, in welchem Falle der mit Tuberkulin gesättigte Organismus nicht mehr reaktionsfähig wäre. Es scheint nach diesen Forschern, daß der Kontakt mit Tuberkulin auch beim nicht tuberkulösen Gewebe eine, wenigstens mehrere Stunden anhaltende, lokale Sensibilisierung auslöse, und sie legen diesem Phänomen den Namen „lokale Anaphylaxie" bei.

Bei nicht tuberkulösen Kranken, denen zu diagnostischen Zwecken Tuberkulin in die Bindehaut des Auges eingeträufelt wurde und bei denen die Reaktion negativen Ausfall hatte, wurde ferner beobachtet, daß eine nachfolgende subkutane Injizierung mit Tuberkulin nach Verlauf einiger Stunden von der charakteristischen Reaktion gefolgt war. A. Marie und Tiffeneau (5) sensibilisierten Kaninchen durch Einführung eines präzipitierten Tuberkulins gegen eine nachfolgende, nach Besredkas Methode vorgenommene Injektion der gleichen Substanz in das Gehirn.

In jüngerer Zeit nahmen Slatinéanu und Daniélopolu (6) die schon vorher von ihnen und zuerst von Courmont behandelte Frage von neuem auf und bewiesen, daß das Tuberkulin die Meerschweinchen selbst gegen Tuberkulose überempfindlich machen könne. Die mit Kochschem Alttuberkulin vorbehandelten Tiere reagieren, nach intracerebraler Einführung von Tuberkelbacillen, mit schweren Allgemeinerscheinungen und erliegen früher als die Kontrolltiere.

Nicolle und Abt (7) behandeln die Tuberkelbacillen nach der von Vaughan angegebenen Methode und erzielen so ein in Alkohol unlösliches, unschädliches Produkt, zum Unterschied von einer andern in Alkohol

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

löslichen Fraktion, welche toxisch wirkt und bei subkutaner oder intraperitonealer Einführung Meerschweinchen und Kaninchen gegen eine zweite (nach 15 Tagen erfolgte) intracerebrale Injektion sensibilisiert, deren Dosis sich bei den Kontrolltieren unschädlich erweist.

Nach Bonome (8) wird durch Behandlung auch gesunder Tiere mit Bakterienpräparaten die Erzeugung besonderer Antikörper angeregt und es ist der Reaktion derselben auch die aktive Anaphylaxie auf Tuberkulin zuzuschreiben.

Andere experimentelle und besonders klinische Beobachtungen scheinen hingegen das Bestehen einer echten, durch Tuberkulin erzeugten Ueberempfindlichkeit bei gesunden Organismen gänzlich auszuschließen. In einem (an sich selbst ausgeführten) Immunisierungsversuch am gesunden Menschen konnte Bertarelli (9) niemals weder lokale noch allgemeine Reaktionserscheinungen wahrnehmen.

Micheli und Quarelli (10) bezweifeln, ob die bei anscheinend gesunden Personen nach wiederholter Anwendung von Tuberkulin beobachteten positiven Reaktionen nicht etwa auf das Vorhandensein verborgener tuberkulöser Herde zurückgeführt werden müssen. Es scheint ferner, daß bei Kindern, bei denen im Vergleich zu Erwachsenen die Tuberkulose sehr selten auftritt, wiederholte Anwendung von Tuberkulin niemals einen Zustand von Ueberempfindlichkeit zur Folge hat (11).

Alle diese experimentellen Ergebnisse und klinischen Beobachtungen stehen sich jedoch mehr im anscheinenden als wirklichen Widerspruch entgegen, wenn man der zwischen den verschiedenen Organismen bestehenden individuellen Unterschiede gedenkt; es handelt sich hier, wenn nicht um grundsätzliche Unterschiede, so doch wenigstens um verschiedene Reaktionsfähigkeit, verschiedene Versuchs- und Beobachtungsanordnung, nach welchen ein Zustand zuweilen von Ueberempfindlichkeit, zuweilen von Unempfindlichkeit beobachtet werden kann (allergische Reaktionen nach v. Pirquet).

In Anbetracht der nicht nur theoretischen sondern auch praktischen Wichtigkeit dieses so sehr umstrittenen Problems entschloß ich mich, einige Untersuchungen mit Kochschem Alttuberkulin und anderen Präparaten vorzunehmen, und zwar mit einem besonderen, nach Angabe von Prof. Belfanti hergestellten Tuberkulinpräparat, Tuberkulin B, mit abgetöteten, getrockneten (normalen) Bacillen und mit entfetteten Bacillen; ich prüfte die Präparate auf den Rat von Prof. Belfanti hin, dem ich an dieser Stelle für die mir freundlichst gebotene Gelegenheit, sowie für den während des Laufes der Arbeit mir erteilten Rat bestens danke.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Resultate meiner Untersuchungen sind in den nachfolgenden Tabellen angeführt; wo besondere Angaben fehlen, wurde die Einspritzung in die Bauchhöhle vorgenommen, was in der Regel sowohl bei der sensibilisierenden als bei der Anaphylaxie auslösenden Injektion der Fall war. Zur Reinjektion wurde zuweilen das gleiche, zuweilen auch ein anderes Tuberkulinpräparat herangezogen.

Das von mir gebrauchte Alttuberkulin ist an tuberkulösen Meerschweinchen bei einer Dosis von $^1/_2$ ccm wirksam; 2 ccm erweisen sich bei normalen Meerschweinchen als unschädlich.

Das in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöste Tuberkulin B ist ebenfalls in tuberkulösen Meerschweinchen bei einer Dosis von $^1/_2$ ccm wirksam, während es bei einer Dosis von 2 ccm für normale Meerschweinchen unschädlich ist. Die getöteten, getrockneten (normalen) sowie die entfetteten Bacillen entfalten ihre Wirkung in tuberkulösen Meerschweinchen bei einer Dosis von 1 cg, bei einer Dosis von 2 cg sind sie hingegen bei normalen Meerschweinchen unschädlich; sie wurden in physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 : 100 suspendiert, so daß 1 ccm der Lösung je 1 cg Substanz entsprach. Selbstverständlich wurden meine Untersuchungen an normalen, nicht tuberkulösen Meerschweinchen ausgeführt.

Tabelle I.

Meerschweinchen No.	Vorbehandelt mit	Reinjektion mit	Ergebnis
1	2 ccm Alttub.	2 ccm Alttub. nach 30 Tagen	† nach 12—18 Std.
2	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	† „ 12—18 „
3	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	† „ 12—18 „
4	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	† „ 12—18 „
5	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	† „ 2 Stunden
6	2 „ „	2 „ „ „ 60 „	† „ 30 Minuten
7	2 „ „	2 „ „ „ 29 „	† „ 2 Stunden
8	2 „ „	2 „ „ „ 29 „	† „ 12—18 Std.
9	2 „ „	2 „ „ „ 29 „	† „ 12—18 „
10	2 „ „	2 „ „ „ 29 „	† „ 12—18 „
11	2 „ „	2 „ „ „ 29 „	† „ 48 Stunden
12	2 „ „	2 „ „ „ 44 „	† „ 12—18 Std.
13	2 „ „	2 „ „ „ 44 „	† „ 12—18 „
14	2 „ „	2 „ „ „ 52 „	† „ 12—18 „
15	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	lebt
16	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	„
17	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	„
18	2 „ „	2 „ „ „ 30 „	„
19	2 „ „	2 „ „ „ 52 „	„
20	2 „ „	2 „ „ „ 52 „	„
21	2 „ „	2 „ „ „ 29 „	„

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

In dieser ersten Tabelle finden sich die Untersuchungen verzeichnet, bei denen die erste sensibilisierende Einspritzung intraperitoneal mit 2 ccm Alttuberkulin vorgenommen wurde, eine Dosis, die von den normalen Meerschweinchen ohne weiteres vertragen wird. Zur Prüfung auf Anaphylaxie wurde im allgemeinen nach Verlauf von 30, zuweilen bis nach 60 Tagen eine zweite intraperitoneale Einführung von 2 ccm Alttuberkulin ausgeführt. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, gehen von den 21 behandelten Meerschweinchen 14 zugrunde, mithin 67 Proz.

Tabelle II.

Meerschweinchen No.	Vorbehandelt mit	Reinjektion mit	Ergebnis
1	2 ccm Alttuberk.	2 ccm Alttuberk. in die Pleura nach 30 Tag.	lebt
2	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ 30 „	„
3	2 „ „	2 ccm Alttuberk. subkutan nach 30 Tagen	„
4	2 „ „	2 „ „ „ „ 30 „	„
5	2 „ „	2 ccm Tub. B in phys. Salzl. intrap. n. 30 Tag.	„
6	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 30 „	„
7	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	† n. 36—40 Std.
8	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	lebt
9	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	„
10	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	„
11	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	„
12	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	„
13	2 „ „	2 ccm Tub. B in phys. Salzl. in d. Pleura n. 32 T.	„
14	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	† nach 12 Std.
15	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ subkutan n. 32 „	lebt
16	2 „ „	2 „ „ „ „ „ „ „ „ 32 „	„

Bei den in der zweiten Tabelle aufgeführten Versuchen wurde ebenfalls die sensibilisierende Injizierung intraperitoneal mit 2 ccm Alttuberkulin vorgenommen, bei der Reinjektion wurde jedoch hier die Einführungsart geändert (subkutan oder intrapleural) oder auch es wurde die Prüfung auf Anaphylaxie mit Tuberkulin B, sei es durch Einführung in das Peritoneum, sei es durch intrapleurale oder subkutane Injizierung ausgeführt. Alle diese Meerschweinchen blieben am Leben mit Ausnahme von zweien, bei denen die Reinjektion mit in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstem Tuberkulin B, beim einen intraperitoneal, beim anderen intrapleural,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorgenommen wurde. Aus den in den beiden vorausgehenden Tabellen zusammengefaßten Ergebnissen geht hervor, daß eine erste intraperitoneale Einführung von Alttuberkulin Koch die Meerschweinchen in den meisten Fällen gegen eine zweite nach einem gewissen Zeitabstand erfolgende Injizierung der gleichen Präparate sensibilisiert, sobald die Einführung wie bei der Vorbehandlung in das Peritoneum erfolgt.

Tabelle III.

Meerschweinchen No.	Vorbehandelt mit	Reinjektion mit	Ergebnis
1	2 ccm Tub. B in NaCl	2 ccm Tub. B in NaCl nach 32 Tag.	lebt
2	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ „ 32 „	„
3	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ „ 32 „	„
4	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ „ 30 „	„
5	2 „ „ „ (subk.)	2 „ „ „ „ „ „ 32 „	„
6	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ „ 32 „	„
7	2 „ „ „ in NaCl	2 ccm Alttuberkulin nach 24 Tagen	„
8	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ 24 „	† n. 6—12 Std.
9	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ 24 „	lebt
10	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ 24 „	„
11	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ 25 „	„
12	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ 25 „	„
13	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ 25 „	„
14	2 „ „ „ „ „	2 cg getöteter Bacillen nach 13 Tag.	† nach 36 Std.
15	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ „ 13 „	lebt
16	2 „ „ „ „ „	2 „ „ „ „ 13 „	„

Bei den ersten vier Meerschweinchen der dritten Tabelle wurde die sensibilisierende Injizierung intraperitoneal mit 2 ccm in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstem Tuberkulin B, und die Reinjektion ebenfalls intraperitoneal mit 2 ccm des gleichen Präparates durchgeführt; keines dieser Tiere reagierte mit anaphylaktischen Erscheinungen. Negative Resultate wurden auch bei zwei Meerschweinchen beobachtet, bei denen die Vorbehandlung subkutan, die Reinjektion intraperitoneal erfolgte. Bei den übrigen Tieren wurde die Nachinjizierung zur Prüfung auf Anaphylaxie entweder mit Alttuberkulin oder mit abgetöteten normalen Bacillen ausgeführt; von diesen verendeten zwei, von denen eines mit Alttuberkulin, das andere mit abgetöteten Bacillen behandelt worden war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Meerschweinchen No.	Vorbehandelt mit	Reinjektion mit	Ergebnis
1	2 cg abgetöt. norm. Bac.	2 cg abgetöt. norm. Bac. nach 30 Tag.	† in 12—18 Std.
2	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 30 „	† in 12—18 Std.
3	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 30 „	lebt
4	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 30 „	„
5	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 23 „	† in 36 Std.
6	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 23 „	lebt
7	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 23 „	„
8	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 23 „	„
9	2 „ „ „ „	2 cg abget. entfetteter Bac. nach 30 Tg.	„
10	2 „ „ „ „	2 „ „ „ „ „ 30 „	„
11	2 „ „ „ „	2 ccm Alttuberkulin nach 23 Tagen	† in 12—18 Std.
12	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 23 „	† „ 12—18 „
13	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 23 „	† „ 12—18 „
14	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 54 „	† „ 4 Std.
15	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 54 „	† „ 12—18 Std.
16	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 54 „	† „ 12—18 „
17	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 25 „	† „ 12—18 „
18	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 25 „	† „ 12—18 „
19	2 „ „ „ „	2 „ „ „ 25 „	† „ 2 Std.

Die in Tabelle IV aufgeführten Meerschweinchen wurden intraperitoneal mit 2 cg getöteter und getrockneter (normaler), in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöster Bacillen sensibilisiert. Bei einem Teil dieser Tiere wurde die Injektion mit dem gleichen Präparat in das Peritoneum wiederholt; von acht so behandelten Meerschweinchen starben drei, während die übrigen fünf am Leben blieben. Bei zwei Meerschweinchen wurde die Reinjektion mit entfetteten Bacillen vorgenommen und beide vertrugen die Behandlung ohne üble Folgen. Alle übrigen Tiere, bei denen die zweite Injektion zur Prüfung auf Anaphylaxie intraperitoneal mit Alttuberkulin Koch ausgeführt wurde, erlagen in einem Zeitraum von 2—18 Stunden.

Tabelle V.

Meerschweinchen No.	Vorbehandelt mit	Reinjektion mit	Ergebnis
1	2 cg entfetteter Bacillen	2 cg entfetteter Bacillen nach 19 Tag.	lebt
2	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 33 „	† n. 36—40 Std.
3	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 33 „	† „ 36—40 „
4	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 30 „	lebt
5	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 30 „	„
6	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 30 „	„
7	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 30 „	„
8	2 „ „ „	2 „ „ „ „ 30 „	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Acht Meerschweinchen erhielten sowohl bei der ersten als bei der zweiten Injizierung je 2 cg entfetteter Bacillen in das Peritoneum; von diesen erlagen nur zwei der Behandlung (Tabelle V).

In Tabelle VI finden die Untersuchungen Raum, welche während eines Monats an 6 Meerschweinchen ausgeführt wurden: es wurden diese Tiere wiederholt, in Zwischenräumen von vier oder fünf Tagen, intraperitoneal mit je 2 ccm Alttuberkulin behandelt; die Injektionen waren im ganzen sechs und wurden von allen Tieren, mit Ausnahme eines einzigen, das bei der vierten Einspritzung starb, ziemlich gut vertragen; die Meerschweinchen nahmen zwar an Gewicht ab, erholten sich aber in der Folge wieder. Nach Verlauf eines Monats wurden diese Tiere neuerdings mit Tuberkulin behandelt; sie gingen dieses Mal insgesamt rasch in einem Zeitraum von 2 Stunden zugrunde.

Tabelle VI.

(AT. = Alttuberkulin.)

Meerschweinchen No.	5. VII. 1909	9. VII. 1909	13. VII. 1909	19. VII. 1909	21. VII. 1909	30. VII. 1909	31. VIII. 1909	Ergebnis
1	2 ccm AT.	2 ccm AT.	2 ccm AT.	2 ccm AT.	2 ccm AT.	2 ccm AT.	2 ccm AT. (nach 31 Tagen)	† nach 2 Std.
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	† „ 2 „
3	„	„	„	„	„	„	„	† „ 2 „
4	„	„	„	„	„	„	„	† „ 2 „
5	„	„	„	„	„	„	„	† „ 2 „
6	„	„	„	†				

Zur Kontrolle erhielten endlich acht Meerschweinchen eine erste und nach einem verschiedenen Zwischenraum eine zweite Injektion von je 2 ccm peptonisierter Glyzerinbouillon in das Peritoneum, welche Behandlung von allen Tieren ohne weiteres vertragen wurde.

Die durch die Reinjektion ausgelösten Erscheinungen sind (bei Bestehen von Anaphylaxie) für die verschiedenen Tuberkulinpräparate so ziemlich die gleichen; das anaphylaktische Meerschweinchen macht zuweilen gleich anfangs, häufiger aber erst nach einiger Zeit einen kranken Eindruck, es sträubt die Haare, gibt Anzeichen einer heftigen Dyspnoë, zeigt Parese der Glieder und verendet mehr oder weniger schnell, in der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Regel nach 6—18 Stunden, manchmal schon früher, nach 4, nach 2 Stunden, ein einziges Mal trat der Tod schon nach einer halben Stunde ein, und er ereignet sich selten später als nach 18—24, höchstens 36 Stunden. Obwohl diese Phänomene ziemlich rasch aufeinander folgen, so entbehren sie doch der Heftigkeit des Symptomenkomplexes, den Marie und Tiffenau bei nach Besredkas-Methode vorgenommener intracerebraler Reinjektion von Tuberkulin beobachtet haben.

Die bei der Autopsie beobachteten makroskopischen Veränderungen können zum Teil von sämtlichen herangezogenen Präparaten erzeugt werden, während einzelne speziell nur auf einige derselben zurückzuführen sind.

In der Regel besteht ein reichliches, fast immer hämorrhagisches Peritonealexsudat und es sind die Gedärme stark kongestioniert; bei den mit abgetöteten Bacillen behandelten Meerschweinchen hat das Darmnetz die Form einer dichten Schnur und weist hin und wieder vereiterte und verkäste Stellen auf, in denen Tuberkelbacillen nachgewiesen werden können. Die Leber ist häufig verändert; bei einem mit abgetöteten (normalen) Bacillen vorbehandelten Tiere konnten in der Leber kleine Knötchen vorgefunden werden, welche eine Anzahl Kochscher Bacillen enthielten. Die durch Tuberkulin und hauptsächlich durch in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstes Tuberkulin hervorgerufenen Veränderungen bestehen jedoch in der Mehrzahl der Fälle einzig in einem reichlichen Peritonealexsudat und in starker Hyperämie des Darmnetzes und der Gedärme; die übrigen Organe sind normal mit Ausnahme der Leber, welche häufig nekrotische Veränderungen aufweist; ausnahmsweise ist die Milz stark vergrößert, wie es bei experimenteller Tuberkulose oft der Fall zu sein pflegt.

Schwere Veränderungen mit positivem bakteriologischen Ergebnis sind stets den toten Bacillenleibern anzurechnen, die sogar die Bildung echter Tuberkel herbeiführen können, welch letztere jedoch nicht vermehrungsfähig und nicht übertragbar sein sollen (12). Ihre Wirkung soll jener der lebenden Kulturen gleichkommen. Durch Einspritzung abgetöteter Kulturen erzeugte Koch Entzündung und Vereiterung; Maffucci, Hodinpyl, Strauss und Gamaleia allgemeinen Marasmus

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

und sogar die Bildung tuberkulöser, mit Verkäsung endender Knötchen (Strauss und Gamaleia, Krompecher, Sternberg etc., 13). Ich erwähne hier die Wirkung der abgetöteten Bacillen, weil dieselbe sich in bezug auf anatomisch-pathologische Veränderungen der durch lebende Bacillen ausgelösten nähert, und im Vereine mit anderen Faktoren eine Erklärung zu bringen vermag für das konstante Auftreten der Anaphylaxie bei Meerschweinchen, welche mit abgetöteten Bacillen vorbehandelt und mit Tuberkulin nachinjiziert wurden.

Aus der Zusammenfassung der vorausgehenden Untersuchungen erhellt, daß bei intraperitonealer Einführung das Kochsche Alttuberkulin in weitaus den meisten Fällen anaphylaktisierendes Vermögen gegen sich selbst aufweist, sobald die Anaphylaxie auslösende Reinjektion ebenfalls in das Peritoneum erfolgt. Wird hingegen die Reinjektion subkutan oder intrapleural mit Tuberkulin B ausgeführt, so bleiben die Tiere am Leben. In physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstes Tuberkulin B war nicht imstande, die Meerschweinchen gegen das gleiche Präparat zu sensibilisieren, es sensibilisierte jedoch zuweilen gegen Altuberkulin sowie gegen abgetötete normale Bacillen.

Abgetötete normale Bacillen vermochten manchmal gegen sich selbst zu sensibilisieren, sie vermochten es in allen Fällen gegen Alttuberkulin, während in zwei Fällen eine Sensibilisierung den entfetteten Bacillen gegenüber nicht erzielt werden konnte.

Mit den entfetteten Bacillen gelang eine Sensibilisierung der Meerschweinchen gegen das gleiche Präparat nur in wenigen Fällen.

Eine weitere Serie von Meerschweinchen wurde wiederholt nach kurzen Pausen mit der auch bei den vorausgehenden Untersuchungen verwendeten Tuberkulindosis behandelt, mit dem Unterschiede, daß hier die Einspritzungen nach einem Zeitraum von nicht mehr als 10—12 Tagen nach der ersten Injektion, demnach in der präanaphylaktischen Periode, begonnen wurden.

Es gelang auf diese Weise die Tiere während der Behandlung am Leben zu erhalten, während die nur einmal injizierten Meerschweinchen nach einer 15—20 Tage, einen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Monat oder noch später ausgeführten Reinjektion zugrunde gingen. Wurde aber die Behandlung unterbrochen und erst nach Verlauf eines Monats neuerdings eine Einspritzung gemacht, so erlagen die Tiere derselben unter rasch aufeinanderfolgenden Erscheinungen.

Eine letzte Serie Meerschweinchen endlich, welche zur Kontrolle mit 2 ccm peptonisierter Glyzerinbouillon sensibilisiert und nach einem gewissen Zeitraum mit 2 ccm des gleichen Präparates nachbehandelt wurden, gaben keinerlei Zeichen von Anaphylaxie.

Die Anaphylaxie äußerte sich mehr oder minder häufig, je nach den Präparaten, welche bei der Sensibilisierung Anwendung fanden. Die verwendeten Präparate zeigten ein ungleiches Sensibilisierungsvermögen gegen sich selbst; während das Alttuberkulin in den meisten Fällen gegen sich selbst sensibilisierte, konnte eine derartige Wirkung bei in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstem Tuberkulin B nicht beobachtet werden.

Es hängt ferner die Auslösung der Anaphylaxie von den verschiedenen Produkten ab, welche bei der Reinjektion Verwendung finden.

Die meisten Theorien, welche sich auf die Anaphylaxie beziehen, betrachten dieselbe als ein Immunitätsphänomen im weitesten Sinne des Wortes und nehmen an, es sei der Organismus mit der Bildung von Antikörpern, Toxogeninen (Richet), Sensibilisinen (Besredka), Erginen (v. Pirquet), Coagulinen und Lysinen (Nicolle) aktiv daran beteiligt.

Nach Nicolle entsprechen die in vivo sich abspielenden Phänomene denen, die wir in vitro beobachten; mit anderen Worten, es sind die Ueberempfindlichkeit auslösenden Antikörper eben dieselben, welche in vitro die lytischen Erscheinungen hervorrufen, d. h. Bakteriolyse, Hämolyse, Albuminolyse etc.

Nach dem genannten Forscher greifen die Lysine das „Rohgift“ der heterogenen Substanz an und befreien daraus das „echte Gift“, das die Intoxikation des Organismus herbeiführt. Wenn diese Verhältnisse bei raschem Ablauf der Lyse bestehen, so führt dieses zur schnellen Auflösung der

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

heterogenen Substanz und zum Auftreten der anaphylaktischen Erscheinungen. Das Wassermann-Brucksche Antituberkulin ist nach Nicolle nichts anderes als ein Lysin des „tuberkulösen Endotoxins". Die Coaguline hingegen werden als Kondensierungsantikörper angesehen, die durch ihre Wirkung auf das Antigen Immunität auslösen. Immunität und Anaphylaxie würden demnach von der Prävalenz der einen oder vielmehr der anderen Art von Antikörpern abhängen und es wäre die Anaphylaxie ebensogut spezifisch als die Immunität.

Nach Wassermann und Bruck (14) wäre die spezifische Lokalreaktion auf Tuberkulin beim tuberkulösen Organismus auf durch Produkte der Tuberkelbacillen erzeugte Antikörper zurückzuführen, welche sich besonders reichlich um den tuberkulösen Herd ansammeln, und die vermöge ihrer spezifischen Avidität die eingeführten Bacillenpräparate an sich reißen. Infolge von methodischer Behandlung mit Bacillenpräparaten unterbleibt hingegen die Reaktion, da der Organismus gegen diese Präparate Antikörper, welche diese Forscher „Antituberkulin" nennen, gebildet hat, die diese Produkte verankern, noch ehe sie den tuberkulösen Herd erreichen können, weshalb die lokale Reaktion nicht zum Ausdruck kommt.

Auch für Wassermann und Bruck entsprechen die Antikörper der Bacillenpräparate (Antituberkulin) den Ambozeptoren, die in vitro Komplement binden.

Es hat diese lytische Theorie, ebenso wie jene von Wolff-Eisner und Nicolle, ihren Ursprung in der Bakteriolyse, welche im bekannten Pfeifferschen Phänomen zum erstenmal beobachtet wurde; während aber nach Wassermann und Bruck die Wirkung des Komplements unerläßlich ist, so erscheint dessen Notwendigkeit für Wolff-Eisner noch nicht erwiesen.

In diesem besonderen Falle kann von den Theorien, welche die Frage auch bezüglich der Wirkung der echten Toxine betrachten (Antitoxin nach Kretz — Toxino-Lysine, neue Körper nach Nicolle), Abstand genommen werden, denn wenn auch neben den Endotoxinen höchst wahrscheinlich immer Esotoxine anzutreffen sind, so ist zu bedenken, daß die zur Abtötung der Mikroorganismen verwendeten Mittel

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwar die Endotoxine beinahe intakt erhalten, die Esotoxine aber vollständig oder fast vollständig zerstören, so daß ihre Wirkung nicht in Betracht kommen kann [Nicolle l. c.[1])].

Da die meisten der verschiedenen Theorien über Anaphylaxie in einigen Punkten zwar übereinstimmen, in vielen andern aber voneinander abweichen, da wir über die Natur der Antikörper noch nicht hinreichend aufgeklärt sind und noch nicht sicher wissen ob die anaphylaktische Reaktion durch einen schon bekannten (Lysine im Gegensatz zu den Kondensierungsantikörpern) oder bisher noch nicht bekannten Antikörper bedingt wird, oder ob ein und derselbe Antikörper, je nach den Umständen, zuweilen eine immunisierende, zuweilen eine schädliche Wirkung auf den Organismus ausüben kann, so dürfte es bis auf weiteres nicht möglich sein, die anaphylaktische Reaktion in einem einheitlichen Sinne auszulegen.

Was meine hier angeführten Untersuchungen betrifft, bei denen der anaphylaktische Shock bei gesunden Organismen nach wiederholten intraperitonealen Injizierungen von Bakterienpräparaten ausgelöst wurde, so kann man annehmen, daß sich die anaphylaktischen Erscheinungen mit eben demselben Mechanismus abspielen, welcher nach den lytischen Theorien (Wassermann, Bruck, Wolff-Eisner) für die bei tuberkulösen Organismen auftretenden Lokalreaktionen in Betracht kommt.

Nach der Auffassung von Nicolle stehen die Immunitätsreaktionen im Zusammenhang mit dem Antigen, dem Organismus, der Einführungsart und es erfolgt je nach den obwaltenden Verhältnissen, je nach der Qualität und Dosis des Antigens, nach Art und Weise und Zeitperiode der Injizierung, sowie je nach der Reaktionsfähigkeit des Organismus ein

1) Es muß an dieser Stelle bemerkt werden, daß, während es nach zahlreichen Untersuchungen (Otto, Rosenau und Anderson etc.) ausgeschlossen erscheint, es seien die bei Bestimmung des antitoxischen Wertes der Sera auftretenden anaphylaktischen Erscheinungen der Wirkung des Antitoxins und des Diphtheriegiftes zuzuschreiben, dennoch angenommen wird, daß das Diphtherietoxin, wenn auch zur Auslösung von Ueberempfindlichkeit nicht absolut notwendig, so doch das Auftreten derselben erleichtern und die Symptome erschweren kann (Kraus und Doerr).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zustand von Immunität oder von Ueberempfindlichkeit. Nach einer ersten intraperitonealen Einführung wird eine aktive lokale, oder wenigstens vorzugsweise lokale Bildung von Antituberkulin angeregt (lytischer Antikörper), das an die Zellen gebunden und dazu bestimmt ist, das Antigen aufzulösen und auszuscheiden. Erfolgt nicht eine neue Zufuhr von Antigen (Tuberkulin, Bakterienpräparate), so wird die auf einmal injizierte Substanz nach und nach aufgelöst und ausgeschieden, und man erreicht als Endresultat die angestrebte Schutzwirkung (15). Vermittelst einer sich langsam vollziehenden Lyse (oder auch nach Nicolle durch andere Kondensierungsprozesse) sind die Bedingungen erreicht worden, die es möglich machen, daß die Schutzkräfte des Organismus denselben in der Tat schützen, und die heterogene Substanz (in diesem Falle das tuberkulöse Endotoxin) ohne bedeutenden Schaden für den Organismus ausgeschieden wird.

In der anaphylaktischen Periode, d. h. wenigstens 10 oder 12 Tage später, während welcher die in diesem Falle an die Gewebe gebundenen lytischen Antikörper vorhanden sind, existieren zur Zeit der erneuten Einführung des Antigens alle die zu einer beschleunigten Lyse erforderlichen Bedingungen, so daß die für den Organismus angestrebte Schutzwirkung nicht zustande kommen kann. Der erstgenannte Fall entspricht einer normalen Inkubationsperiode, der zweite den immediaten und beschleunigten Reaktionen nach v. Pirquet, welch letztere nach diesem Forscher einer nicht gesättigten Verbindung zwischen Endotoxin und Antikörper zuzuschreiben wären, d. h. einer antitoxischen Verbindung im Sinne von Arrhenius und Madsen (16). Wird die Reinjektion während der ersten 10 oder 12 Tage nach der ersten Einführung vorgenommen, in einem Zeitraum also, in welchem der anaphylaktische Zustand noch nicht besteht, so fehlen die zur beschleunigten Reaktion erforderlichen Bedingungen, und es würden auch wiederholte, nach kurzen Zwischenräumen gemachte Einführungen zu gleichen Resultaten führen, weil jede neue Antigenzufuhr die im Organismus vorhandenen Antikörper zu sättigen hätte.

Es scheint schließlich wahrscheinlich, daß sowohl die lokalen, als auch die allgemeinen Reaktionen an die zwischen

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Antigen und Antikörper bestehenden Verhältnisse gebunden sind und daß man in ihnen den Ausdruck einer Anstrengung zu sehen hat, mittelst welcher der Organismus die eingeführten heterogenen Substanzen auszuscheiden sucht und die sich, je nach ihrer mehr oder weniger großen Schnelligkeit, auf verschiedene Weise äußern.

In jenen Fällen, in denen die Einführungsart eine verschiedene war, unterblieb der anaphylaktische Shock beständig, was auf zweierlei Art ausgelegt werden kann. Es könnte sich um frei im Blute kreisende Antikörper handeln, welche sich nach der Wassermann- und Bruckschen Theorie mit den Bakterienpräparaten verankern, noch ehe diese mit den an die Gewebe gebundenen Antikörpern in Berührung kommen. Eine Annahme, die noch mehr Wahrscheinlichkeit besitzt, wäre folgende: gesetzt den Fall, es bestehen keine frei im Blute kreisenden Antikörper, was aus Versuchen über die Komplementbindung bei einigen dieser Sera hervorzugehen scheint, so könnte das auf verschiedene Art eingeführte Antigen mit größerer Langsamkeit zur Verankerung mit seinem Antikörper gelangt sein, so daß auf diese Weise der anaphylaktische Shock unterblieb.

Es können die vorliegenden Untersuchungen jedoch nicht ausschließen, daß bei verschiedener (intravenöser) Einführungsart der anaphylaktische Shock dennoch auftritt, und daß die intracerebrale Injizierung (Marie und Tiffeneau) bei direkter Verankerung des Antigens mit den gebundenen Antikörpern, deren Bildung nach Besredka sowohl, als auch nach Richet vorzüglich im Nervensystem erfolgt, nicht doch zu einem beschleunigten anaphylaktischen Shock führen könne. Ebensowenig will ich ausschließen, daß die anaphylaktische Reaktion nicht auch durch frei im Blute kreisende Antikörper ausgelöst werden und, wie es bei anderen Substanzen der Fall ist, passiv übertragbar sein könnte, obgleich das Auftreten der Anaphylaxie unterbleiben kann, wenn die Antikörper im Blute nur spärlich vorhanden sind (Richet).

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen berechtigen einzig zur Annahme einer durch an die Gewebe gebundene Antikörper ausgelösten Wirkung, sowie des Auftretens einer aktiven Anaphylaxie, welche mit der Bildung von Antikörpern, vor-

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

nehmlich von lokalen Antikörpern einhergeht, und die auf Bakterienpräparate zurückzuführen ist. Es mögen die vorliegenden Tatsachen in irgendwelcher Weise ausgelegt werden, so lassen die wiederholten, nach kurzen Zwischenräumen aufeinanderfolgenden Injizierungen mit Alttuberkulin es ausgeschlossen erscheinen, daß es sich bei meinen Versuchen um kumulative Wirkung handeln könne, und es sprechen auch die mit peptonisierter Glyzerinbouillon angestellten Kontrollen dafür, daß die erhaltenen Resultate im speziellen Falle des Alttuberkulins nicht auf die Beschaffenheit des Präparates zurückgeführt werden können.

Es scheinen mir demnach alle die qualitativen und quantitativen Bedingungen erfüllt zu sein, welche nach Kraus (17) zur Unterscheidung der anaphylaktischen von den pseudoanaphylaktischeu Erscheinungen notwendig sind. Nach diesem Forscher können jedoch auch die zuerst von Belfanti und Carbone nachgewiesenen Serumhämolysine Symptome auslösen, welche denen der Anaphylaxie gleichen, und es vermögen beträchtliche Dosen von Normalserum oder steriler Bouillon gegen Reinjektion geringer Mengen von Giften zu sensibilisieren, die dem Typus des tuberkulösen Giftes entsprechen und die bei Kontrolltieren unschädlich sind, wobei die Krankheitserscheinungen denen des anaphylaktischen Symptomkomplexes nahekommen. Die Antianaphylaxie könne mit Recht zur Unterscheidung dieser pseudoanaphylaktischen Zustände von der wirklichen Anaphylaxie herangezogen werden. Verschiedenen Verhältnissen Rechnung tragend, würden einige Untersuchungen, die ich in diesem Sinne ausgeführt habe, bestätigen, daß es sich hier um wahre Anaphylaxie handelt.

Zusammenfassung.

Eine intraperitoneale Vorbehandlung mit Alttuberkulin sensibilisiert die normalen Meerschweinchen gegen eine spätere, bei gleicher Einführungsart erfolgende Reinjektion desselben Präparates.

Der von dem Tode des Tieres gefolgte anaphylaktische Shock wird bei einem hohen Prozentsatz der Fälle (in den vorliegenden Versuchen 67 Proz.) beobachtet.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Die übrigen auf gleiche Weise geprüften Derivate der Tuberkelbacillen beweisen ein verschiedenes anaphylaktisierendes Vermögen; einige derselben sensibilisieren nicht oder nur ausnahmsweise gegen sich selbst.

Wird bei der ersten und zweiten Injektion nicht ein und dasselbe Präparat eingeführt, so äußert sich die Anaphylaxie mehr oder minder häufig (in den vorliegenden Untersuchungen, bei Vorbehandlung mit abgetöteten Bacillen und Reinjizierung mit Alttuberkulin ereignete sich der Tod bei 100 Proz. der Fälle), je nach den Präparaten, die bei der Sensibilisierung Anwendung finden, und es hängt die Auslösung der Anaphylaxie auch von den zur Reinjektion herangezogenen Produkten ab.

Literatur.

1) Koch, R., Deutsche med. Wochenschr., 1893.
2) Levaditi, Jahresb. über Ergeb. der Immunitätsf., Bd. 3, 1908.
3) Richet, Ann. Inst. Pasteur, T. 21, 1907.
4) Calmette, Petit et Breton, Compt. rend. Soc. Biol., T. 2, 1907.
5) Marie, A., et Tiffeneau, M., Compt. rend. Soc. Biol., T. 1, 1908.
6) Slatinéanu, A., et Daniélopolu, Compt. rend. Soc. Biol., 1909, No. 14.
7) Nicolle, M., et Abt, G., Ann. Inst. Pasteur, T. 13, 1908.
8) Bonome, A., La Tubercolosi, 1909, Fasc. 2.
9) Bertarelli, E., La Tubercolosi, 1908, Fasc. 4.
10) Micheli e Quarelli, Giorn. R. Accad. Med. Torino, 1907, No. 9 e 11.
11) Cohn, Hamburger u. Feer, La Tubercolosi, 1909, Fasc. 1, zitiert von Micheli.
12) Besson, Technique microbiologique, 1908.
13) Banti, Anat. Pat., Vol. 1.
14) Wassermann u. Bruck, Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 12.
15) Belfanti, Prefazione alla traduzione di v. Pirquet. Studi clinici sulla vaccinazione e allergia vaccinale. Milano 1908.
16) v. Pirquet, Klinische Studien über Vaccination und vaccinale Allergie. Wien (Deuticke) 1907.
17) Kraus, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experiment. Therap., Orig., 1909.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kaiserl. Universität in Odessa (Direktor: Prof. W. Woronin).]

Ueber die Lipoidanaphylaxie.

Erste Mitteilung.

Von Dr. **A. Bogomolez,**
Assistent des Instituts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Januar 1910.)

Mit der Frage, ob nur die heterologen Eiweißsubstanzen und einige Derivate derselben gesteigerte Empfindlichkeit erzeugen und bei wiederholter Einführung in den tierischen Organismus Erscheinungen von anaphylaktischem Shock hervorrufen können oder ob auch andere, chemisch verschiedene Substanzen dieselben Eigenschaften besitzen, hat man sich bis jetzt fast nicht beschäftigt. Speziell in bezug auf die Lipoidanaphylaxie besteht die gesamte Literatur fast ausschließlich aus den Mitteilungen von Pick und Yamanouchi[1]) und Belonowski[2]). Jedoch sind die Experimente der beiden ersten Autoren, die versuchten, bei Kaninchen Anaphylaxie mittels Lipoidextraktes von Ochsen- und Pferdeserum hervorzurufen, in bezug auf ihre Resultate zu unbestimmt. Belonowski widmet in seiner Arbeit der Lipoidanaphylaxie im ganzen 14 Zeilen, was augenscheinlich zu wenig ist, um den kategorischen Schuß des Autors zu rechtfertigen, daß die sensibilisierende Substanz und die toxische Substanz, welche anaphylaktische Erscheinungen hervorruft, im Lecithin enthalten sei. Dieser Autor teilt, ohne Versuchsprotokolle zu bringen, mit, daß bei mit Serum sensibilisierten Meerschweinchen die subdurale Injektion von $^1/_4$ ccm einer 10-proz. Emulsion von Lecithin in physiologischer Lösung charakteristische Symptome von Anaphylaxie hervorrief, und daß andererseits Meerschweinchen, die mit Lecithin sensibilisiert waren und nach einer bestimmten Zeit teils wiederum mit Lecithin, teils mit Serum reinjiziert wurden, sämtlich schwere anaphylaktische Erscheinungen darboten, die meistenteils letal endeten. So

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 1, 1909, Heft 5.
2) Charkow. med. Journ., Bd. 7, 1909, No. 5.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

wichtige Beobachtungen, die, wenn sie besser begründet wären, eine ganze Reihe von rätselhaften Erscheinungen hätten beleuchten können, hätten eine eingehendere und aufmerksamere Darstellung verdient.

In dieser ersten Mitteilung möchte ich kurz die Resultate meiner Versuche mitteilen, mittels der aus Hühnereigelb gewonnenen Lipoide Anaphylaxie hervorzurufen.

Um diese Lipoide zu gewinnen, wurde das Eigelb 2 Tage lang bei einer Temperatur von 37° unter häufigem Schütteln in 5-facher Volummenge 95-proz. Alkohols extrahiert. Hierauf wurde der erste Extrakt durch einen Papierfilter filtriert, der Niederschlag unter den oben angegebenen Bedingungen einer neuen Extraktion unterzogen, dann filtriert; der zweite Extrakt wurde mit dem ersten vermengt und die Mischung im Vakuum bei einer Temperatur von 40° bis zur Konsistenz von dichtem Syrup eingedampft, der dann in wasserfreiem Aether gelöst, durch Papier filtriert und wiederum im Vakuum eingedampft wurde. Die auf diese Weise gewonnene gelbe, zähe lipoide Masse wurde gewogen und in einem bestimmten Volumen wasserfreiem Aether gelöst. Die ätherische Lösung der Lipoide wurde vor dem Gebrauch wieder im Vakuum bis zum vollständigen Verschwinden des Aethergeruches eingedampft und die Lipoide in 0,8-proz. Kochsalzlösung emulgiert.

10 Meerschweinchen wurden am 28. X. 1909 mittels intraperitonealer Injektion von je 0,05 g Eigelblipoide, die in 1 ccm 0,8-proz. Kochsalzlösung emulgiert waren, sensibilisiert.

Am 13. XI., d. h. nach 16 Tagen, bekamen dieselben Meerschweinchen in die Bauchhöhle je 2,0 g derselben Lipoide in 5 ccm einer 0,8-proz. Kochsalzlösung. Nach 5—10 Minuten zeigte die Mehrzahl der Tiere Unruhe, sie zitterten, husteten, kratzten mit den Vorderpfoten die Nase. Die Atmung wurde frequent und oberflächlich, es entwickelten sich paretische Erscheinungen in den hinteren Extremitäten, es folgte reichlicher Abgang von Harn und Faeces. Jedoch gelang es nicht, charakteristische Krämpfe bezw. mehr oder minder bedeutendes Sinken der Temperatur festzustellen. Eine Stunde nach der Probe fühlten sich die Tiere bereits wieder vollkommen wohl.

Am 10. XII. bekamen 6 Meerschweinchen von derselben Serie in die Bauchhöhle je 5 ccm einer 50-proz. Emulsion von Hühereigelb in physiologischer Kochsalzlösung. Bei 4 Meerschweinchen entwickelten sich nach 5—10 Minuten die oben beschriebenen Erscheinungen von Anaphylaxie in schwacher Form, die bei 2 Meerschweinchen mit Herabsetzung der Temperatur bis 36,0 und unbedeutenden Krämpfen einhergingen.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Beim 5. Meerschweinchen, No. 54, Körpergewicht 420 g, erreichten die Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks eine bedeutend höhere Intensität. 10 Minuten nach der Injektion stellten sich abnorm frequente Atmung und heftiger, mit Brechbewegungen einhergehender Husten, starke Unruhe, reichlicher Abgang von Harn und etwas blutig gefärbter Faeces ein. Nach weiteren 5 Minuten entwickelten sich paretische Erscheinungen, die zeitweise mit heftigen Krämpfen abwechselten; die Temperatur sank im Rectum bis 36,0. Innerhalb der folgenden halben Stunde sank die Temperatur weiter bis 32,3, und es stellte sich vollständige Prostration ein. Nach einer weiteren Stunde begann das Tier sich allmählich zu erholen.

Dieselben Erscheinungen wurden auch beim 6. Meerschweinchen, No. 43, Körpergewicht 375 g, beobachtet, jedoch verlief der anaphylaktische Symptomenkomplex stürmisch und rascher: 20 Minuten nach der Injektion ging das Tier in einem typischen Krampfanfall zugrunde. Bei der eine Stunde nach dem Tode des Tieres ausgeführten Sektion fand man außer hochgradiger Hyperämie und Auftreibung des ganzen Darmtraktus, sowie außer flüssigem dunklen Blut makroskopisch keine weiteren Abweichungen von der Norm.

2 Meerschweinchen von derselben Serie, die intraperitoneal je 2,0 g Lipoidextrakt von Hühnereigelb, in 5 ccm 0,8-proz. Kochsalzlösung emulgiert, erhalten hatten, zeigten nur eine schwache, der oben beschriebenen ähnliche Reaktion. Die übrigen 2 Meerschweinchen haben auf die intraperitoneale Injektion von 10 ccm einer 50-proz. Lösung von Hühnereieiweiß überhaupt nicht reagiert.

Zugleich haben 5 Meerschweinchen, von denen jedes mit 0,1 lipoiden Eigelbextraktes sensibilisiert war, 16 Tage später auf die abdominale Injektion von 1,0 mittels Alkohol und Aether entfetteter und in physiologischer Kochsalzlösung verriebener Hühnereigelbsubstanz in keiner Weise reagiert.

Die Kontrollexperimente, die darin bestanden, daß unvorbereiteten normalen Meerschweinchen doppelt so große Quantitäten von Hühnereigelb und dessen lipoidem Extrakt injiziert wurden, ergaben, daß diese Substanzen an und für sich vollständig unschädlich sind und keine Reaktion hervorrufen.

Zusammenfassung.

Aus vorstehenden Ausführungen glaube ich den Schluß ziehen zu dürfen, daß die vorangehende Behandlung der Meerschweinchen mit lipoidem Hühnereigelbextrakt eine gesteigerte Empfindlichkeit derselben gegen die Bestandteile des Hühnereigelbs hervorruft, wobei die Tiere auf die intraperitoneale Injektion dieser Bestandteile mit typischem anaphylaktischen Symptomenkomplex reagieren.

Der Hinweis mancher Autoren auf das eventuelle Vorhandensein von Eiweißspuren in den Lipoidextrakten, die sich chemisch zwar nicht bestimmen lassen, aber zur Sen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sibilisation ausreichen, welcher Hinweis auf das bekannte Experiment von Rosenau und Anderson gestützt wird, denen es gelungen ist, Anaphylaxie bei einem mit $^1/_{1000\,000}$ ccm Serum sensibilisierten Tiere hervorzurufen, dürfte kaum von praktischer Bedeutung sein. Der einzige Fall von Rosenau und Anderson steht in vollem Widerspruch mit den Angaben der Mehrzahl der Autoren, welche die Minimaldosis ungefähr mit 0,01 ccm berechnen. Andererseits hat die von Th. Smith beobachtete natürliche Anaphylaxie bei Meerschweinchen dem Experiment jede Beweiskraft genommen.

Komplizierter ist die Frage nach der Natur der Substanzen, die bei der Reinjektion den toxischen Effekt erzeugen. Wie oben bereits erwähnt, ist es mittelst lipoiden Eigelbextrakts bei der zweiten und dritten Injektion gelungen, nur schwache anaphylaktische Erscheinungen hervorzurufen. Diese Erscheinungen erreichten eine wesentlich höhere Intensität, wenn für die Reinjektion Emulsionen der Eigelbe selbst und nicht deren lipoide Extrakte verwendet wurden. Augenscheinlich ist auch nach der zweiten Injektion von lipoiden Extrakten keine Antianaphylaxie eingetreten.

Ob bei der Extraktion mit Alkohol und Aether die Lipoide des Eigelbs dermaßen denaturiert werden, daß deren toxische — im Sinne der Fähigkeit, einen anaphylaktischen Symptomenkomplex hervorzurufen — Eigenschaften sich in bedeutendem Maße verändern oder verringern, oder ob wir es hier mit einem neuen Beweis für die Nichtidentität der sensibilisierenden und toxischen Substanzen — Eiweißsubstanzen des Eigelbs? — zu tun haben, werden vielleicht die weiteren Untersuchungen ergeben, die ich demnächst zu veröffentlichen beabsichtige. Es ist möglich, daß man in derselben Richtung den Schlüssel zur Lösung der durch die Experimente von Bang und Forssmann in den Vordergrund gebrachten Frage der Nichtidentität der Antigene mit den Substanzen, die die Ambozeptoren fixieren, suchen muß. Ohne in der Frage, ob nicht die Resultate meiner Experimente auch auf andere Weise erklärt werden können, irgendwie vorgreifen zu wollen, wollte ich in dieser ersten Mitteilung nur die faktische Seite der Frage kurz streifen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3698

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. V. No. 2/3.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien.]

Analyse des Präzipitationsphänomens mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion.

Von Privatdozent Dr. **R. Doerr** und Dr. **J. Moldovan**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Januar 1910.)

Versetzt man eine Lösung von artspezifischem Eiweiß mit dem zugehörigen präzipitierenden Immunserum, so entsteht ein flockiger Niederschlag. Wir müssen also annehmen, daß in den beiden miteinander reagierenden eiweißhaltigen Substraten zwei Körper existieren, durch deren Verbindung oder wechselseitige Einwirkung das Präzipitat zustande kommt, und bezeichnen diese zunächst rein hypothetischen Stoffe als präzipitable Substanz (Präzipitinogen) und als Präzipitin. Ueber ihre Natur, insbesondere über ihr Verhältnis zu den verschiedenen Eiweißkörpern der Sera, in welchen sie vorkommen, über ihre qualitative und quantitative Beteiligung an der Bildung des sichtbaren Präzipitates und vieles andere sind die Meinungen noch sehr geteilt. Da Michaelis erst kürzlich den gegenwärtigen Stand der Frage in ebenso erschöpfender wie klarer Form dargestellt hat, können wir uns darauf beschränken, einzelne markante oder ergänzende Punkte hervorzuheben und im übrigen auf die zitierte Arbeit zu verweisen.

In Hinsicht auf die Präzipitinogene zweifeln auch neuere Autoren noch immer, ob sie überhaupt etwas mit dem Eiweiß zu schaffen haben. Friedemann und Isaac stellten sich auf Grund von Stoffwechseluntersuchungen auf diesen Standpunkt. Sie finden, daß hungernde Tiere parenteral injiziertes Eiweiß rascher abbauen und als N im Harne ausscheiden, als solche im Stickstoffgleichgewicht; dagegen zeigt sich keine Differenz im Verschwinden der präzipitablen Substanz. Sie folgern daraus, daß die artspezifischen Komplexe,

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

die Präzipitinogene, nicht mit dem Eiweiß als ganzem identisch sind, sondern nur einen kleinen Teil desselben ausmachen, indem entweder nur wenige Eiweißmoleküle antigen sind, oder der spezifische Komplex einen Teil des Proteinmoleküles darstellt, der trotz erfolgter Zersetzung desselben erhalten bleiben und durch die biologische Methode nachweisbar sein kann. Zu einer ähnlichen Auffassung waren schon früher Obermayer und Pick gelangt, welche als wahrscheinlich annahmen, daß die artspezifische Gruppierung im Eiweißmolekül in der Hauptsache von Gruppen beeinflußt wird, welche mit den aromatischen Kernen des Eiweißes zusammenhängen. Die Art, wie die Seitenketten um den aromatischen Kern gelagert sind, bedingt die Artspezifität mit ihrer ungeheuren Zahl von Variationsmöglichkeiten; durch den Eintritt von Substituenten (J, NO_2, N = N) werden diese artcharakteristischen Differenzen nivelliert, und entsteht eine neue, die konstitutive oder Zustandsspezifität, die darin zum Ausdruck kommt, daß sich alle durch eine Art von Eingriff gewonnenen Eiweißderivate ohne Rücksicht auf ihre Provenienz verwandt zeigen. Da alle jene Prozeduren, welche die Artspezifität aufheben, relativ geringfügig sind, da derart verändertes Eiweiß noch immer ein höchst komplexer, kolloidaler Körper ist, der die gleichen Abbauprodukte liefert wie die artspezifische Muttersubstanz, so ist nicht die Größe der Moleküle für die Spezifität entscheidend, sondern lediglich bestimmte räumliche Gruppierungen um (allem Anscheine nach) aromatische Kerne. — Jakoby leugnet jeden Zusammenhang zwischen Präzipitinogen und Eiweiß und behauptet, daß beide miteinander nur vermengt, aber nicht verbunden seien. Durch tryptische Verdauung eiweißfrei gemachtes Ricin gibt mit Antiricin noch immer einen Niederschlag. Mit Recht macht aber Michaelis aufmerksam, daß sich die anderen Präzipitinogene vom Ricin prinzipiell unterscheiden, indem sie bei peptischer und tryptischer Verdauung kräftig zerstört werden, und zwar in dem Maße, wie der Abbau des Eiweißes fortschreitet. — Schließlich hat Franceschelli Leber einer fünfmonatlichen Autolyse unterzogen, bis die Biuretreaktion negativ ausfiel. Solche autolysierte Leberextrakte lieferten mit einem Leberantiserum fast ebenso starke Niederschläge wie Extrakte frischer Leber, und bestimmte man den N-Gehalt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Antigens, des Immunserums, und nach eingetretener Fällung den N des Abgusses und des Präzipitates nach Kjeldahl, so konnte keine deutliche Abnahme der präzipitablen Substanz durch die Autolyse nachgewiesen werden. Wohl aber deuteten die Ergebnisse der Komplementablenkungsmethode darauf hin, daß bei der Autolyse eine Zerstörung des Antigens stattfinde, die aber sehr langsam und geringfügig sein muß im Vergleiche zu dem Einfluß peptischer und tryptischer Fermente, bei deren Anwendung es nicht glückte, in biuretfreien Lösungen spezifische Fällungen hervorzurufen. — Landsteiner und v. Eisler nehmen an, daß der Organismus imstande sei, die in vitro so schwierige Scheidung von Eiweiß und Präzipitinogen zu vollziehen, indem die gesunde Niere wohl das letztere, nicht aber das erstere passieren lasse. Fleischmann und Michaelis konnten indes diese Angaben nicht bestätigen.

Ueberblickt man die in der Literatur niedergelegten Tatsachen, so wird man sich heute wohl kaum entschließen können, die Präzipitinogene vom Eiweiß in dem Sinne abzutrennen, daß man sie als selbständige Körper betrachtet, welche einen vom Eiweiß verschiedenen Bau besitzen, nur zufällig in den natürlichen Substraten mit Eiweiß gemengt sind, und in vitro oder in vivo von demselben losgelöst werden können. Vielmehr muß man Michaelis Recht geben, daß alles dazu drängt, die präzipitinogene Fähigkeit, oder was dasselbe ist, die artspezifische Eigenschaft natürlicher Eiweißlösungen als einen integrierenden Bestandteil der Eiweißmoleküle zu betrachten.

Auch über die chemische Natur der Präzipitine ist wenig bekannt. Wir wissen nur, daß sich diese Immunkörper gegenüber Fermenten, Siedehitze resp. Erwärmen wie Eiweißkörper verhalten, bei $^1/_3$-Sättigung mit Ammonsulfat, also gleichzeitig mit den Euglobulinen ausfallen, und durch tierische Membranen nicht diffundieren. Da die chemische Zusammensetzung präzipitinhaltiger Sera von der normaler Sera nicht abweicht, da insbesondere die Globuline keine Vermehrung aufweisen (Pohl), so scheint viel dafür zu sprechen, daß Aenderungen, welche die präexistierenden Euglobuline des Organismus durch die Immunisierung erfahren, die präzipitierende Wirkung bedingen. Solche immunisatorische Aenderungen der in jeder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tierart präformierten, spezifischen Eiweißkörper könnten nun entweder die Artspezifität selbst tangieren oder dieselbe intakt lassen. In ersterem Sinne scheinen einige Ergebnisse von Pick und Yamanouchi verwertbar zu sein, welche fanden, daß man Kaninchen mit Antieiweißserum von Kaninchen überempfindlich machen, d. h. gegen eine Reinjektion desselben Immunserums aktiv anaphylaktisieren kann. Allerdings sind diese Versuche nicht eindeutig und enthalten sich auch die Autoren selbst aller scharf präzisierten Schlüsse. Es muß also vorläufig dahingestellt bleiben, ob das Serum eines immunisierten Tieres auf dieselbe Species antigen wirkt und folglich als artfremdes zu betrachten sei. Aus neueren Experimenten von Braun wäre das gerade Gegenteil zu entnehmen. Er strebte den Nachweis an, daß Immunkörper die Charaktere des artspezifischen Eiweißes bewahren, mithin in einer Richtung als Antikörper, in der anderen als Antigene zu wirken vermögen. Braun brachte Pneumokokken in Kontakt mit Pneumokokkenimmunserum vom Pferde und wusch dann sorgfältig auf der Zentrifuge. Er nahm an, daß durch diese Vorsichtsmaßregel alles Pferdeserum aus den Pneumokokken ausgewaschen werde und daß an den Bakterienleibern nur die gegen Pneumokokken gerichteten, daher fest gebundenen Antikörper haften bleiben. Da er durch solche angeblich nur Immunkörper-beladene Mikroben Meerschweinchen aktiv gegen Pferdeserum zu sensibilisieren verursachte, da es ihm ferner gelang, mit derartigen „sensibilisierten“ Pneumokokken Immunsera ihres Gehaltes an Präzipitinen und anaphylaktischem Reaktionskörper zu berauben, so schien ihm der Schluß gerechtfertigt, daß der Immunkörper selbst seinen Antigencharakter bewahrt habe. Das würde also heißen, daß Antikörper artspezifische Eiweißkörper des Immuntieres seien. Braun ließ aber außer Acht, daß adsorbierende korpuskuläre Elemente, wie Bakterien, auch rein mechanisch Eiweißkörper sehr fest, ja irreversibel zu binden vermögen. Hieher gehören die Versuche von Bordet, der durch Barytpulver Sera ihres Gehaltes an Alexin beraubte, die Versuche von Levaditi und Raijchmann, welche durch Meerschweinchenerythrocyten das Anaphylaktogen des Pferdeserums adsorbierten, die Experimente von Sleeswijk und Salus, die Pferdeserum für anaphy-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

laktische Tiere dadurch atoxisch machten, daß sie mit Baryt oder Erythrocyten durch bis zur Erschöpfung fortgesetzte Adsorption das spezifische Eiweiß entfernten. Das brachte uns auf die Idee, daß auch in den von Braun mitgeteilten Versuchen ähnliche, rein mechanische Vorgänge der Oberflächenattraktion eine Rolle spielen könnten, daß mit anderen Worten Pneumokokken, welche mit Pneumokokkenimmunserum vom Pferde in Berührung stehen, nicht nur den gegen die Bakterien gerichteten Antikörper binden und festhalten, sondern auch gewöhnliches Pferdeeiweiß.

In der Tat vermochten wir nachzuweisen, daß mit normalem Rinderserum vorbehandelte Kreide, Staphylokokken, Hefezellen trotz vielfachen Waschens Meerschweinchen gegen spätere Rinderseruminjektion aktiv sensibilisieren.

Versuch.

I. 0,1 g sterilisierter Schlemmkreide wird in 2,0 ccm Rinderserum suspendiert, 2ʰ bei 37° C und weitere 16ʰ in der Kälte gehalten, hierauf zentrifugiert, mit der 30-fachen Menge physiologischer NaCl-Lösung 5mal auf der Zentrifuge gewaschen, schließlich in 2,0 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und zu gleichen Teilen je einem Meerschweinchen subkutan injiziert. Nach 18 Tagen bekommen beide 0,5 ccm inaktives, für eine Kontrolle ganz unwirksames Rinderserum iv.

M. 27	erhält	1,0	Kreidesuspension,	nach	18	Tagen	0,5	Rinders. iv.	†	5′
M. 28	„	1,0	„	„	18	„	0,5	„ „	†	5′

II. 2 Oesen von einer 24-stündigen, durch 1ʰ bei 60° C abgetöteten Staphylokokkenkultur werden in 2,0 ccm NaCl suspendiert, dann 0,5 ccm Rinderserum zugefügt, 2ʰ bei 37° C, 16ʰ bei Zimmertemperatur belassen, dann wie oben zentrifugiert und gewaschen. Das letzte Sediment wird in 2,0 ccm aufgenommen.

Meerschweinchen 31 erhält diese Staphylokokkenemulsion subkutan, nach 18 Tagen 0,5 ccm Rinderserum iv. und zeigt schwerste Symptome.

III. Dieselbe Versuchsanordnung, nur wurden statt 2 Oesen 1—2 Kulturen Staphylokokken verwendet.

M. 34	erhält	2	Kulturen	sensib.	Staph.	subk.,	n.	18	Tg.	0,5	R.-S. iv.	† 5′
M. 35	„	2	„	„	„	„	„	18	„	0,5	„ „	† 5′
M. 36	„	1	„	„	„	„	„	18	„	0,5	„ „	† 5′

IV. Sensibilisierung mit Hefezellen, die mit Rinderserum in Kontakt waren und dann gewaschen wurden.

Meerschweinchen 39 erhält 2 solche vorbehandelte Hefekulturen, nach 18 Tagen 0,5 ccm Rinderserum iv. und stirbt in 5′.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es konnte also, wie schon früher von Levaditi und Raijchmann, gezeigt werden, daß verschiedene und in kleinen Mengen verwendete korpuskuläre Elemente das Anaphylaktogen (Sensibilisinogen) des normalen Rinderserums adsorbieren, daß dasselbe trotz eifrigsten Waschens haften bleibt und bei Meerschweinchen den anaphylaktischen Zustand auslöst. Mithin scheinen die Versuche Brauns nicht zu beweisen, daß dem Immunkörper als solchem die antigenen Fähigkeiten artspezifischen Eiweißes zukommen.

Ebenso wie über die Natur von Präzipitinogen und Präzipitin herrscht auch über die Beteiligung beider an der Niederschlagsbildung noch keine völlige Klarheit. Dies mag zum Teil in der Eigentümlichkeit der Reaktion begründet sein, welche, je nach der Quantität der reagierenden Körper, der Avidität und Wertigkeit des Präzipitins, der Zusammensetzung und eventuell auch je nach dem Volum des Reaktionsmediums quantitativ und qualitativ differiert. Nur unter besonders günstigen Verhältnisse, d. h. bei Anwendung sehr starker Präzipitine gehen beide Komponenten total in den Niederschlag ein, indem sie zu einer unlöslichen Verbindung zusammentreten (P. Th. Müller, v. Dungern). In den meisten Fällen verläuft die Reaktion unvollständig und lassen sich nach erfolgter Fällung in der überstehenden Flüssigkeit Antigen und Antikörper nebeneinander nachweisen. Auch das Präzipitat variiert nach v. Dungern, Michaelis und Fleischmann in seiner Zusammensetzung, enthält bald einen Ueberschuß an präzipitabler Substanz, da es noch Präzipitin zu binden vermag, bald wieder soviel Präzipitin, daß manche Autoren die Beteiligung des Präzipitinogens an der Niederschlagsbildung überhaupt leugnen, wie Moll, im gewissen Sinne auch Pick, Maragliano. Nach der Ansicht dieser Forscher ist der Ausdruck präzipitable Substanz überhaupt unrichtig, weil das, was gefällt wird, das Immunserum ist. Das Präzipitinogen spielt eine aktive Rolle, indem es entweder wie ein Ferment, z. B. das kaseïnfällende Lab wirkt, oder gewisse Hemmungen beseitigt, welche der jedem Präzipitinserum innewohnenden Tendenz, spontan auszuflocken, entgegenstehen (Friedemann und Friedenthal). Nach Franceschelli besteht der Niederschlag größtenteils aus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Eiweiß des Immunserums, welches jedoch mit dem Immunkörper nicht identisch ist. Stellte er nämlich die Reaktion unter identischen Bedingungen einmal mit Vollserum, das andere Mal mit durch $MgSO_4$ quantitativ ausgesalzenem Präzipitin an, so war das Präzipitat im ersten Falle massiger; es müßte also das immunkörperfreie Eiweiß des Vollserums (Albumin) einen erheblichen Beitrag zum Niederschlag geleistet haben. Auf Grund dieser Beobachtungen erklärt Friedemann neuerdings, „daß der Niederschlag seiner Masse nach weder aus dem Antigen, noch aus dem Antikörper, sondern aus unspezifischem" (sollte richtiger heißen: an der Reaktion nicht primär beteiligtem) Eiweiß bestehe, welches erst durch die Antikörper-Antigenverbindung niedergeschlagen wird. In dieser Annahme sieht sich Friedemann bestärkt durch den bekannten Versuch von Jakoby, der fand, daß Erythrocyten, welche mit unterschwelligen, d. h. an sich nicht agglutinierenden Ricinmengen sensibilisiert wurden, durch Zusatz von Antiricin sofort konglobiert werden und durch die ähnliche Beobachtung von Moreschi, daß Erythrocyten, mit insuffizienten Mengen agglutinierenden Serums vorbehandelt, agglutiniert werden, wenn man ein auf das Eiweiß des agglutinierenden Immunserums eingestelltes Präzipitin hinzufügt. In beiden Fällen ist die Zusammenballung und Ausflockung der Erythrocyten ein bloß sekundäres Phänomen; sie werden rein passiv in den von Präzipitinogen und Präzipitin gebildeten Niederschlag hineingerissen. Michaelis bemerkt gegenüber allen diesen Bestrebungen, das Eingehen des Präzipitinogens in die Niederschlagsbildung in Abrede zu stellen, daß sie sich lediglich auf solche Experimente stützen, in welchen Gemische von viel Präzipitin und wenig präzipitabler Substanz zur Anwendung kamen. Dabei entsteht ein Präzipitat, welches allerdings an Masse die zur Reaktion gebrachte präzipitable Substanz um ein Vielfaches überwiegt und so scheint der Schluß gerechtfertigt, daß der Niederschlag fast nur aus den Eiweißkörpern des Immunserums bestehe. Nimmt man, wie schon erwähnt, von beiden Faktoren mittlere Mengen, so hat der Niederschlag eine weniger einseitige Zusammensetzung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir sehen also, daß alle diese Fragen noch dringend einer Klärung bedürfen und fragten uns, ob es denn kein Mittel gäbe, das Verhalten des artspezifischen Eiweißes und seines Immunkörpers bei der Präzipitation zu studieren. Nun ist es bekannt, daß artspezifisches körperfremdes Eiweiß nicht nur Präzipitinbildung auslöst, d. h. Antikörper erzeugt, welche in vitro reagieren, sondern auch Tiere spezifisch überempfindlich, aktiv anaphylaktisch macht. Aus den Untersuchungen von Rosenau und Anderson, Wells, Doerr und Russ u. v. a. geht ferner vorher, daß noch minimalste Spuren artspezifischen Eiweißes diese Probe geben bis zu 0,000001 ccm heterologen Serums herab, entsprechend 0,0000001 g Trockensubstanz des Totaleiweißes, oder ca. 0,00000005 g Serumglobulin, der nach Doerr und Russ allein wirksamen Fraktion des Serumeiweißes. Voraussetzung ist nur, daß diese Experimente am Meerschweinchen ausgeführt werden, das unter allen Versuchstieren allein die Eigenschaft besitzt, auf solche subkutan injizierte Eiwiweißspuren mit hochgradigster Anaphylaxie zu antworten.

Wir brachten also im Reagenzglase präzipitables und präzipitierendes Serum, z. B. Rinderserum und Antirinderserum vom Kaninchen zusammen, warteten, bis die Fällungsreaktion abgelaufen war und suchten nun die Schicksale des in den beiden reagierenden Substraten enthaltenen artspezifischen Eiweißes zu verfolgen. Dies geschah, indem wir die gewaschenen Präzipitate und die Abgüsse Meerscheinchen subkutan einspritzten und die Tiere nach entsprechendem Intervall intravenös mit normalem, inaktivem Rinder- und Kaninchenserum reinjizierten. Hierbei konnte ja ohne weiteres angenommen werden, daß das Auftreten anaphylaktischer Symptome bei der Prüfung mit Rinderserum gleichbedeutend sei mit dem erbrachten Nachweis von Präzipitinogen, da Niemand daran zweifelt, daß präzipitinogene und anaphylaktogene Fähigkeit beide mit dem Attribut der Artspezifität unzertrennbar verknüpft sind. Das Reagieren der Tiere auf Kaninchenserum-Reinjektion würde allerdings zunächst nur besagen, daß in dem zur Vorbehandlung gewählten Substrat artspezifisches Kanincheneiweiß war, nicht aber ohne weiteres in dem Sinne verwertet werden dürfen, daß damit auch der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachweis des Immunkörpers, des Präzipitins, erbracht worden sei. Darauf kommen wir noch später zurück und wollen nun den Ausfall eines

Vorversuches

schildern.

Als Präzipitin verwendeten wir das Serum des Kaninchens 471, welches durch wiederholte intravenöse Injektionen von Rinderserum immunisiert und 6 Tage nach der letzten Injektion entblutet worden war. Die Titerbestimmung nach Uhlenhuth (0,1 ccm Immunserum + 1,0 ccm steigender Verdünnungen von Rinderserum) ergab folgendes Resultat:

Verdünnung	Resultat nach			
	1′	30′	1ʰ	2ʰ
1:10	+	+++	+++	+++
1:50	+	+++	+++	+++
1:100	+	+++	+++	+++
1:200	+	++	+++	+++
1:400	0	++	+++	+++
1:800	0	+	+++	+++
1:1600	0	+	+	++
1:3200	0	+	+	+

Nun wurden Verdünnungen von Rinderserum, und zwar 1:50, 1:200 und 1:800 mit dem Immunserum 471 versetzt, die Präzipitation bis zu völliger Klärung der Flüssigkeit abgewartet, die Abgüsse abpipettiert, die Präzipitate mehrmals mit einer dem ursprünglichen Reaktionsvolum entsprechenden Menge physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, bis rechnungsmäßig jede sensibilisierende, aus den Abgüssen stammende Eiweißmenge verschwunden sein mußte, und nun Meerschweinchen mit den Abgüssen, sowie mit den gewaschenen und wieder aufgeschwemmten Präzipitaten subkutan sensibilisiert, und nach Ablauf von 18 Tagen in einer Serie mit Rinderserum, in der anderen mit Kaninchenserum intravenös reinjiziert. Starb das Tier nicht im anaphylaktischen Shock, sondern erholte es sich, so wurde 24ʰ später eine zweite intravenöse Reinjektion ausgeführt, und zwar bekamen die Tiere, welche am Vortage mit Rinderserum geprüft worden waren, nunmehr Kaninchenserum und umgekehrt. Auf diese Weise standen uns in vielen Fällen je 2 Tiere für die Beurteilung einer bestimmten Versuchskombination (Rinder- oder Kaninchenserum) zur Verfügung.

A. 6,0 Rinderserum (1:50 verdünnt) werden mit 0,6 Serum von Kaninchen 471 versetzt, durch 6ʰ bei 37° C stehen gelassen, die klaren Abgüsse abpipettiert, die Präzipitate 4mal auf der Zentrifuge gewaschen und schließlich in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert. **B.** 6,0 Rinderserum (1:200) + 0,6 Serum 471, behandelt wie A. **C.** 6,0 Rinderserum (1:800) + 0,6 Serum 471, behandelt wie A.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Prüfung der Präzipitate.

Meerschw. No.	Subkutan vorbehandelt mit	1. Reinjekt. nach 18 Tag. intravenös	Erscheinungen	2. Reinjekt. intravenös 24h darauf	Erscheinungen
412	Präzipitat von A	0,2 Rinderser.	θ	1,0 Kan.-Ser.	sofort schwerste Sympt., † n. 1h
413	Präzipitat von A	0,2 „	θ	0,8 „	sofort schwerste Sympt. † n. 15′
414	Präzipitat von B	0,2 „	θ	0,8 „	† nach 5′
416	Präzipitat von C	0,2 „	θ	0,8 „	† nach 5′

2. Prüfung der Abgüsse.

Meerschw. No.	Subkutan vorbehandelt mit	1. intravenöse Reinjektion n. 18 Tag.	Erscheinungen	2. intravenöse Reinjektion 24h darauf	Erscheinungen
419	Abguß von A	0,2 Rinderserum	deutl. schwere Symptome	1,0 Kan.-Ser.	schwerste Sympt. † nach 1h
421	Abguß von B	0,2 dgl.	deutl. schwere Symptome	0,6 „	schwerste Symptome
422	Abguß von B	0,2 „	† nach 5′	—	—
423	Abguß von C	0,2 „	θ	0,8 Kan.-Ser.	schwerste Symptome

Dieser Vorversuch hatte also gezeigt, daß die mit Präzipitat sensibilisierten Tiere auf Rinderserumreinjektion nicht reagieren. Um dieses Resultat zu verstehen, muß man sich vergegenwärtigen, wie viel Rinderserum im Reaktionsgemisch vorhanden war. In 6,0 einer Verdünnung von 1:50, wie sie sub A zur Anwendung kam, sind 0,12 ccm Rinderserum enthalten; diese Menge verteilt sich aber, da mit den Präzipitaten sowohl als Abgüssen je zwei Tiere injiziert wurden, und käme daher, gleichgültig ob nach der Reaktion das Rinderserum nur im Abgusse oder im Präzipitat oder in beiden vorhanden war, mindestens für ein Meerschweinchen 0,03 ccm Rinderserum als sensibilisierende Menge in Betracht. Für B berechnet sich die auf jedes Versuchstier entfallende Menge Rinderserum im Minimum auf 0,0073, für C auf 0,0013.

Zum Vergleiche haben wir normale Meerschweinchen mit demselben Rinderserum, und zwar mit fallenden Mengen subkutan sensibilisiert und nach 18 Tagen mit 0,2 ccm Rinderserum intravenös reinjiziert. Sie reagierten, wie folgt:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschw.	Sensibilisiert mit Rinderserum	Resultat der Reinjektion
460	0,0025	† 5′
461	0,001	schwerste Symptome
462	0,0005	schwerste Symptome
463	0,00025	verzögerte, aber schwere Sympt.

Wäre also das artspezifische Eiweiß nicht in Reaktion getreten, oder bloß passiv mitgerissen worden, dann hätten alle mit Präzipitaten oder Abgüssen von A und B injizierten Meerschweinchen mit Exitus auf Reinjektion von 0,2 ccm Rinderserum reagieren müssen. **Wir sehen aber, daß die Präzipitattiere überhaupt keine Symptome zeigten;** daraus müßte man schließen, daß das Rindereiweiß ganz in den Ausgüssen verblieben sei, was aber auch nicht zutrifft, da die Abgüsse von C gar nicht, die von A und B nicht tödlich sensibilisierten, wie man es bei Mengen von 0,007 resp. 0,03 unbedingt erwarten müßte. Bei einer gewissen Serumkonzentration (1:800) war also das artspezifische Rindereiweiß, das Präzipitinogen völlig verschwunden, 0,0025 ccm, welche zur Sensibilisierung von 10, ja 100 Tieren ausgereicht hätten, waren einfach verbraucht.

Bei größeren Antigenmengen war durch die Ausflockung der flüssige Teil des Reaktionsgemisches an Rinderserum deutlich, und zwar recht erheblich verarmt, was sich rechnungsmäßig leicht zeigen läßt, da Multipla der tödlich sensibilisierenden Dosis hätten vorhanden sein sollen, nämlich 0,007 bis 0,03, während die beobachtete anaphylaktische Reaktion einer Sensibilisierungsdosis von etwa 0,00025 bis maximal 0,001 entsprach. Die Präzipitate sensibilisierten auch hier nicht.

Dieser vielversprechende Ausfall des Vorversuches veranlaßte uns, einen größeren Versuch anzustellen, in welchem noch andere Antigenkonzentrationen benützt, und vorzüglich auch die Waschflüssigkeiten, welche sich beim Reinigen der Präzipitate ergeben, auf ihren Gehalt an antigenem Rindereiweiß durch das aktiv anaphylaktische Experiment geprüft wurden. Es wäre ja immerhin möglich, daß bei dieser Prozedur passiv niedergeschlagenes oder adsorbiertes Rinderserum wieder aufgelöst und ausgelaugt würde. Wie diese Kontrollen aber

Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

ergaben, ist das nicht der Fall. Das Antigen und das Antiserum waren dieselben wie im Vorversuch, so daß die oben angeführte Sensibilisierungsskala auch für das folgende Experiment als Maßstab verwendet werden kann.

Versuch.

A. 4,0 Rinderserum (1:10 verdünnt) + 0,4 Serum 471, durch 6ʰ bei 37° C belassen, die Abgüsse abpipettiert, die Präzipitate gewaschen und in 4,0 NaCl-Lösung suspendiert.

B. 4,0 Rinderserum (1:400) + 0,4 Serum 471, wie sub A behandelt, nur wurde das 1. und 2. Waschwasser aufgehoben und in das Experiment einbezogen.

C. 4,0 Rinderserum (1:400) + 0,2 Serum 471, wie A, Waschflüssigkeiten gleichfalls zur Sensibilisierung verwendet.

D. 4,0 Rinderserum (1:1000) + 0,4 Serum 471, wie A behandelt.

E. 4,0 Rinderserum (1:1000) + 0,2 Serum 471, wie A behandelt.

1. Prüfung der Präzipitate.

Meerschw. No.	Subkutan vorbehandelt mit	1. intravenöse Reinjektion nach 18 Tagen	Erscheinungen	2. intravenöse Reinjektion 24ʰ darauf	Erscheinungen
424	½ Präzipitat von A[1])	0,2 Rinderser.	verzögerte deutliche Sympt., wird somnolent, † in 5ʰ	—	—
426	½ Präzipitat von B	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	schwerste Symptome
427	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† nach 5′	—	—
428	½ Präzipitat von C	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	schwerste Symptome, † in 10′
429	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 4′	—	—
430	½ Präzipitat von D	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′
431	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′	—	—
432	½ Präzipitat von E	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	schwerste Symptome, erholt sich
433	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	verzög. schwerste Sympt., erholt sich	0,2 Rinderser.	θ

1) Das zweite Tier starb vor der Reinjektion.

Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

2. Prüfung der Abgüsse.

Meerschw. No.	Subkutan vorbehandelt mit	1. intravenöse Reinjektion nach 18 Tagen	Erscheinungen	2. intravenöse Reinjektion 24h darauf	Erscheinungen
435	1/2 Abguß von A	0,2 Rinderser.	verzög. schwerste Sympt., somnolent, † in 5h	—	—
436	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 3′	—	—
437	1/2 Abguß von B	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	† in 6′
438	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′	—	—
439	1/2 Abguß von C	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	† in 4′
440	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′	—	—
441	1/2 Abguß von D	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′
442	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′	—	—
443	1/2 Abguß von E	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	† in 4′
444	dgl.	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′	—	—

3. Prüfung der Waschflüssigkeiten.

Meerschw. No.	Subkutan vorbehandelt mit	1. intravenöse Reinjektion nach 18 Tagen	Erscheinungen	2. intravenöse Reinjektion 24h darauf	Erscheinungen
450	1. Waschflüssigkeit von B	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	† in 6′
451	1. Waschflüssigkeit von C	0,4 Kan.-Ser.	† in 5′	—	—
452	2. Waschflüssigkeit von B	0,2 Rinderser.	θ	0,4 Kan.-Ser.	θ
453	2. Waschflüssigkeit von C	0,4 Kan.-Ser.	θ	0,2 Rinderser.	θ

Für diesen Versuch berechnen sich die Mengen antigenen Rinderserums pro Meerschweinchen im Minimum, d. h. wenn man eine gleichmäßige Verteilung auf alle mit jedem Reaktionsgemisch sensibilisierten vier Tiere, also den ungünstigsten Fall annimmt, auf:

A 0,1 ccm,
B und C 0,0025 ccm,
D und E 0,001 ccm.

Bei Serie A, B und C stand also Exitus zu erwarten, bei D und E schwerste Symptome.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nun sehen wir bei den mit Präzipitat sensibilisierten Tieren gar keine Reaktion; nur in Serie A zeigt das Meerschweinchen verzögerte Symptome und stirbt nach protrahiertem Krankheitsverlauf. Ebenso unwirksam sind die Abgüsse, bei B und C reagieren die Tiere gar nicht, der Abguß von A zeigte ganz schwache sensibilisierende Wirkung. Auch die Waschflüssigkeiten der Präzipitate von B und C vermochten nicht aktiv gegen Rinderserum zu anaphylaktisieren.

Es ist also absolut sichergestellt, daß bei der Präzipitinreaktion Mengen von Antigen, wie sie in 0,01 Rinderserum vorkommen, quantitativ verschwinden; eine völlige Zerstörung ist dabei wohl nicht anzunehmen, vielmehr muß man sich vorstellen, daß der Artcharakter, der eine conditio sine qua non für die Antigenwirkung darstellt, verloren geht, sei es, daß eine Umlagerung von Gruppen am aromatischen Eiweißkern (Pick und Obermayer) erfolgt, wofür auch die von Abderhalden beobachtete Aenderung der optischen Aktivität des Reaktionsgemisches sprechen würde, sei es, daß im Sinne Ehrlichs die Seitenketten, welche Artspezifität und antigenes Vermögen bedingen, durch das Präzipitin besetzt und sohin nicht mehr im Immunitätsexperiment nachweisbar werden. Das ist auch nebenbei ein Beweis gegen alle, welche annehmen, daß das Präzipitinogen bei der Reaktion nicht verbraucht werde, resp. in die Niederschlagsbildung nicht eingehe oder nur passiv mitgefällt wird. Damit erledigen sich ferner alle jene Einwände, welche Kraus und Novotný gegen den von Doerr und Russ erbrachten Nachweis erheben, daß die präzipitable Substanz mit dem Anaphylaktogen identisch sei und die Präzipitinreaktion in vitro als wesensgleich betrachtet werden müsse mit der anaphylaktischen in vivo. Es ist danach nicht mehr zweifelhaft, daß artspezifisches Eiweiß oder Präzipitinogen oder Anaphylaktogen nur Synonyma für die in nativen Seris vorkommenden Antigene darstellen.

Eine andere Frage ist die, ob das Präzipitin des Immunserums mit dem artspezifischen Eiweiß desselben identisch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist oder nicht. Wenn wir die oben angeführten Versuchsserien mit einem Blick überfliegen, so zeigt sich sofort, daß alle Meerschweinchen, ganz gleichgültig, ob sie mit Präzipitaten oder mit Abgüssen vorbehandelt waren, auf die Reinjektion von Kaninchenserum mit schwersten Symptomen reagierten. Selbst bei Antigenverdünnungen von 1 : 800 im ersten, von 1 : 1000 im zweiten Versuch, wo die Präzipitate nach wiederholtem Waschen so spärlich waren, daß sie nur einen Anflug der Kuppe des Reagensglases bildeten, war die sensibilisierende Kraft für Kaninchenei weiß erhalten. Ueberlegt man noch, daß wir nicht allein einseitig mit einem Ueberschuß an präzipitierendem Serum arbeiteten, sondern wie in den Serien A beider Versuchsreihen beträchtliche, ja dem Immunserum äquiparierende Antigenmengen zur Reaktion brachten, so scheint der Schluß wohl gerechtfertigt, daß die präzipitierende Fähigkeit eines Immunserums mit dem artspezifischen Charakter des darin enthaltenen Eiweißes nicht identisch ist. Wäre dieses der Fall, so müßte ja, wenn sich das Präzipitin mit dem Präzipitinogen verbindet, der Gehalt des Reaktionsvolumens an dem artspezifischen Eiweiß des Immunserums abnehmen, d. h. es müßte doch mindestens eine Reduktion des Kaninchenanaphylaktogens in unseren Versuchen zu konstatieren sein [1]). Doch besteht die Möglichkeit, daß Präzipitin und artspezifischer Charakter zwei verschiedene, an demselben Globulinmolekül haftende Fähigkeiten sind. Dann wäre dasselbe Proteinmolekül antigen im Sinne des artspezifischen Eiweißes, weil es die hierzu notwendige Gruppierung besitzt, und gleichzeitig mit Immunkörperfunktionen behaftet (Präzipitin), weil es die entsprechende Seitenkette hat.

Drittens endlich können wir auf Grund unserer Versuche nicht sicher ausschließen, wenn wir es auch für unwahrscheinlich halten, daß das Präzipitin mit dem artspezifischen Eiweiß seines Serums gar nichts zu tun hat, sondern einfach passiv

1) Mit Rücksicht darauf, daß selbst Spuren wiederholt gewaschenen Präzipitates noch die Fähigkeit in hohem Grade besitzen, anaphylaktogen zu wirken, erscheint die Annahme, daß das Präzipitat zum großen Teil aus dem artspezifischen Eiweiß des Immunserums besteht, gerechtfertigt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mitgerissen wird. Dafür würde die Möglichkeit sprechen, mit dem ersten Waschwasser gegen Kaninchenserum zu sensibilisieren; es scheint das Kaninchenei weiß im Präzipitat nur lose zu haften und leicht ausgelaugt zu werden. Beim Rinderserum ist das nicht der Fall, da wirkt das Waschwasser nicht. Indes mögen die Mengenverhältnisse daran schuld sein, da beim Waschwasserversuch das präzipitierende Serum im Ueberschuß war; bei gleichen Mengen Antigen und Immunserum (0,4 + 0,4 ccm) haben wir leider die Waschwässer nicht geprüft.

Schließlich weisen wir noch in aller Kürze darauf hin, daß bei großen Antigenmengen (A-Serie des zweiten Versuches) etwas mitgerissenes Präzipitinogen als Anaphylaktogen im Präzipitat nachweisbar bleibt. Doerr und Russ beschreiben nun Versuche, in welchen an sich wenig giftige Präzipitate auf anaphylaktische Meerschweinchen hochtoxisch wirken, somit freies Anaphylaktogen (sog. toxische Substanz) enthalten. Sie arbeiteten eben mit Antigenüberschuß und daher diese Ergebnisse, welche Kraus und Novotný so deuten, daß hier toxische Substanz, d. h. anaphylaktisches Antigen passiv mitgerissen worden sei. Sie meinen, daß man auf Grund dieser Versuche die Identität von präzipitabler Substanz aus anaphylaktischem Antigen nicht behaupten dürfe. Wir haben nunmehr gezeigt, daß bei geeigneten Mengenverhältnissen zugleich mit der Präzipitation ein so restloser Verbrauch von Anaphylaktogen stattfindet, daß die Einwände von Kraus und Novotný jede Bedeutung verlieren.

Zusammenfassung.

1) Artspezifisches körperfremdes Eiweiß ist ein Antigen, welches man je nach der Art der Beobachtung seiner Wirkung als Präzipitinogen oder Anaphylaktogen bezeichnet.

2) Bei der Präzipitinreaktion in vitro findet ein Verbrauch dieses Antigens statt. Er kann bei geeigneten Mengenverhältnissen so restlos sein,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß die überaus feine Prüfung durch Sensibilisierung von Meerschweinchen negativ ausfällt; bei ungünstigeren Proportionen von artspezifischem Eiweißantigen und Präzipitin läßt sich auf demselben Wege die beträchtliche Reduktion des ersteren erweisen.

3) Das Präzipitin ist mit dem artspezifischen Eiweißkomplex des Immunserums sicher nicht identisch, haftet aber höchst wahrscheinlich innig an demselben, ohne die Artspezifität zu alterieren.

Literatur.

Rraun, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.
Doerr und Russ, ebenda, Bd. 2 und 3.
v. Dungern, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903.
Fleischmann und Michaelis, Zeitschr. f. exper. Pathol., Bd. 1, 1905; Fortschr. d. Med., Bd. 22, p. 1257.
Franceschelli, Arch. f. Hyg., Bd. 69 und Bd. 70.
Friedemann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.
— und Isaac, Zeitschr. f. exper. Pathol., Bd. 1, 1905.
— und Friedenthal, ebenda, Bd. 3, 1906.
Jacoby, Hofm. Beitr., Bd. 1, p. 50.
Kraus und Novotný, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.
Levaditi und Raijchman, Compt. rend. Soc. de Biol., 1909.
Maragliano, Berlin. klin. Wochenschr., 1904.
Michaelis, Handb. d. Biochemie, Bd. 2, p. 552.
Moll, Hofm. Beitr., Bd. 4, 1905.
Obermayer und Pick, Wien. klin. Wochenschr., 1906.
Pick, Hofm. Beitr., Bd. 1.
Pohl, Hofm. Beitr., Bd. 8.
Salus, Wien. klin. Wochenschr., 1909.
Sleeswijk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.

Generated on 2019-01-12 21:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität in Turin (Direktor: Prof. B. Morpurgo).]

Ueber die natürliche Immunität gegen Milzbrand.

Von Dr. **A. Donati,**
Assistent und Privatdozent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Januar 1910.)

Hühner und Tauben sind bekanntlich gegen Milzbrandinfektionen refraktär. Lange Zeit ist diese Immunität Gegenstand der Forschung gewesen, da man hoffte, durch sie in das Problem der künstlichen Immunität Klärung bringen zu können. Aber die von den verschiedenen Autoren erzielten Resultate und gegebenen Erklärungen haben bisher nicht zu übereinstimmenden und endgültigen Schlüssen geführt.

Im Verfolge der Metschnikowschen Idee haben einige Autoren die natürliche Immunität des Huhns und der Taube ausschließlich auf Phagocytose zurückgeführt [Hess[1]), Wagner[2]), Trapeznikow[3]), Metschnikow[4])]. Andere Autoren haben dagegen die Phagocytose nicht für die wesentliche Ursache der Immunität angesehen, ohne sie deshalb ganz abzulehnen [Czaplewski[5]), Lubarsch[6])]. Weiterhin wurde die Tendenz allgemeiner, die im Gegenteil die hauptsächliche und vorzüglichste Schutzkraft gegen die Bakterien in die bakteriziden Wirkungen der Organsäfte verlegte. Aber dieser Auffassung stand in ihrer ursprünglichen Form die Erfahrung entgegen, daß das Serum des milzbrandempfindlichen Kaninchens stark bakterizid ist, während die milzbrandrefraktären Sera vom Hund und Huhn es nicht sind. Die Frage nach den Beziehungen zwischen bakterizider Serumwirkung und Immunität gegen Milzbrand wurde dann von Bail und Pettersson[8]) wieder aufgenommen, nach denen die Vernichtung der Milzbrandbakterien beim Huhn einem Komplement zuzuschreiben wäre, das dem Knochenmarke entstamme. In der Tat wird das an und für sich inaktive Hühnerserum nach Zusatz von Knochenmark oder auch von Leukocyten stark bakterizid.

1) Virch. Arch., Bd. 109.
2) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 4.
3) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 5.
4) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 4.
5) Zieglers Beitr., Bd. 7.
6) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 12.
7) Centralbl. f. Bakt., Bd. 6.
8) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 35.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gruber und Futaki[1]) meinen, daß die hohe Körpertemperatur des Huhns für den Milzbrandbacillus ungünstig und somit ein gutes Schutzmittel gegen ihn sei; ein äußerst wirksamer Schutz wären ferner die Phagocyten, die die virulentesten Bacillen zu fressen suchen. Sobald Milzbrandbacillen ins Hühnerblut gelangt sind, hätten die Leukocyten die Fähigkeit, sie zu fressen und in ungeheurer Menge zu verdauen, eine Tatsache, die bei empfänglichen Tieren nicht beobachtet wird.

Ein Schutzmittel der Milzbrandbacillen gegen die Phagocyten besteht in der Bildung von Kapseln, die in den Säften vermittelst einer besonderen Substanz vor sich geht, so daß es auf die Existenzbedingungen ankommt, die der Bacillus bei subkutaner Infektion vorfindet. Diese Bedingungen sind beim Meerschweinchen und beim Kaninchen günstig, weshalb sich die Bacillen unter Kapselbildung vermehren, beim Hund und beim Huhn werden die Bacillen dagegen rasch zerstört, ehe sie Zeit finden, sich einzukapseln.

In letzter Zeit, und zwar gerade als ich den Hauptteil der dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen beendet hatte, hat Preisz[2]) eine ausführliche Arbeit über die Virulenz, Empfänglichkeit und Immunität bei Milzbrand veröffentlicht. Er kommt auf Grund seiner zahlreichen Beobachtungen zu der Ansicht, daß bei allen Tieren, auch bei den empfindlichsten, bakterizide Substanzen gegen Milzbrandbacillen, aber in verschiedener Menge und Konzentration vorhanden sind. Töten diese Substanzen die ins Gewebe gelangten Keime in Kürze ab, so ist das Tier immun, sind die bakteriziden Substanzen dagegen spärlich, so bleibt eine mehr oder weniger große Bacillenmenge am Leben, bildet Kapseln und erhöht hierdurch ihre Resistenz und bedingt die Allgemeininfektion. Letzteres findet sich bei den empfänglichen Tieren.

Die Empfänglichkeit und Immunität sind nicht vom Grade der Phagocytose, sondern von der bakteriziden Kraft der Säfte abhängig. Bei den wenig empfindlichen oder immunen Tieren findet sich stärkere Phagocytose deshalb, weil zahlreichere Bacillenleichen vorhanden sind, die ein stärkeres Zudringen von Leukocyten verursachen als lebende Bacillen.

Die Möglichkeit der Kapselbildung ist eine unumgängliche Bedingung für die Virulenz des Milzbrandbacillus; deshalb darf er nicht schnell zerstört werden und deshalb müssen die für die Kapselbildung erforderlichen Bedingungen (Substanzen?) reichlicher gegeben sein.

Die Faktoren oder Substanzen, die zur Kapselbildung nötig sind, fehlen zwar nicht im immunen Tiere, aber man findet sie dennoch nur ausnahmsweise an der Impfstelle. Dies beruht auf der Tatsache, daß die Bacillen schlechte Lebensbedingungen oder bakterizide Substanzen vorfinden, die sie vernichten, ehe die Verteidigung mittels Kapseln ihnen möglich ist. Eingekapselte Bacillen, die dem Huhn unter die Haut gebracht werden, überleben kapselfreie um etwa 4 Tage. Dieser Unterschied ist nicht an die Leukocytose und Phagocytose geknüpft, sondern beruht darauf, daß die Kapseln den Milzbrandbacillus gegen die bakteriziden Stoffe im Unterhautbindegewebe der Vögel schützen.

1) Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 6.
2) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 49.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bail[1]) ist nicht ganz der allgemein angenommenen Anschauung, daß die Kapseln ein Schutzmittel des Bacillus darstellen. Er hält vielmehr die Kapselform für einen Krankheitszustand oder doch wenigstens für einen abnormen Zustand und meint, daß die Resistenz des animalisierten Bacillus nicht in kausalem Zusammenhang mit der Kapsel steht, sondern eine Begleiterscheinung seiner Zustandsänderung ist.

Ascoli[2]) erblickt dagegen in der Kapsel den Ausdruck für das Angehen des Keimes auf dem besonderen, ihm dargebotenen Nährboden.

Weil[3]) hat ferner in einer Sitzung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie mitgeteilt, daß nach seinen Beobachtungen die Leukocyten auch ohne Phagocytose imstande sind, auf Milzbrandbacillen bakterizid zu wirken, die sich im Tierkörper bis zu vollständiger Kapselbildung modifiziert haben.

Toyosumi[4]) ist auf Grund seiner Experimente der Meinung, daß eingekapselte Bacillen keine größere Resistenz als Kulturbacillen besitzen und fast gleichzeitig äußert sich Fischoeder[5]) in einer ausführlichen Arbeit über die Biologie des Milzbrandbacillus dahin, daß die Kapsel nicht als Schutzmittel gegen die bakteriziden Kräfte angesehen werden könne, sondern im Gegenteil einen Krankheitszustand darstelle.

Aus dieser kurzen Zusammenfassung erhellt, daß gegenwärtig der größte Wert für die natürliche Milzbrandimmunität den bakteriziden Wirkungen gelöster Stoffe zugeschrieben wird, und daß die Kapsel einerseits als ein Schutz des Bacillus und Ausdruck seines Wachstums, andererseits als ein Krankheitszustand oder eine morphologische Umwandlung angesehen wird, die von der Widerstandsfähigkeit unabhängig ist, so daß den eingekapselten Formen eine größere Resistenz als den Kulturformen nicht zuerkannt wird.

Seit Oktober 1908 habe ich Untersuchungen über die interessante und noch dunkle Frage der natürlichen Immunität des Huhnes und der Taube gegen Milzbrand angestellt, und zwar unter Benutzung der von Canalis und Morpurgo[6]) entdeckten Tatsache, daß im Hungerzustand die Immunität bei der Taube immer und beim Huhn in etwa der Hälfte der Fälle verschwindet.

Ich hatte mir vorgenommen, zu prüfen, ob vergleichende Untersuchungen der verschiedenen als Schutzerscheinungen gedeuteten, im Organismus und in vitro vorkommenden bio-

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 46.
2) Atti d. Soc. Milanese di Med. e Biol., Vol. 3.
3) Centralbl. f. Bakt., Beil., Bd. 44, Refer.
4) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 51.
5) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 51.
6) Fortschr. d. Med., Bd. 8.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

logischen Prozesse sowie solche der Modifikationen der Bacillen in den tierischen Säften und im Körper, sei es unter normalen Bedingungen, sei es im Hungerzustande, irgendeine Tatsache zu ergeben vermöchten, aus der sich ein Schluß auf die Ursachen der natürlichen Milzbrandimmunität der Vögel würde ziehen lassen.

Ich habe die phagocytäre Funktion der Leukocyten in vitro, die bakterizide Wirkung des Blutes ebenfalls in vitro untersucht, ferner die von den Bakterien im Blutserum außerhalb des Organismus und im Unterhautgewebe erlittenen Modifikationen und schließlich die Reaktion des Organismus an der Impfstelle.

Zunächst sei über die Phagocytose in vitro berichtet. In der Technik folgte ich derjenigen von Wright mit leichten, von Walker[1]) empfohlenen Varianten. Ich verschaffte mir Hühnerblutleukocyten, indem ich mehrere Tropfen Blut in ein Röhrchen fallen ließ, in dem eine lauwarme Lösung von 1 Proz. reinsten Natriumcitrats in physiologischer Kochsalzlösung enthalten war. Die Lösung wurde mit mäßiger Geschwindigkeit und mäßig lange zentrifugiert, der Körperchenniederschlag zweimal mit lauer physiologischer Kochsalzlösung zur Entfernung jeder Spur des Citrates gewaschen, da dieses bekanntlich nach Hamburger[2]) die Phagocytose vermindert oder lähmt, während nach seiner gründlichen Entfernung und Ersetzung durch frisches Serum die Leukocyten nicht merklich verändert werden. Nach Abgießen der zweiten Waschflüssigkeit wurden die Blutkörperchen 40- bis 50mal in eine Kapillarpipette eingesogen und wieder ausgeblasen, um die Leukocyten gleichmäßig unter ihnen zu verteilen.

Das Serum gewann ich durch Auffangen des Blutes in den von Wright vorgeschlagenen gebogenen Röhrchen und in gewöhnlichen Reagensgläschen, in denen es nach eingetretener Gerinnung zentrifugiert wurde. Ich bereitete mir eine homogene Bakteriensuspension, die fast vollständig aus isolierten Bacillen bestand und achtete immer sorgfältig auf eine gleichmäßige Verteilung der drei Komponenten in den Kapillarröhrchen, die 20 Minuten lang in einem Wasserbade von 41° blieben. Nachdem dann die Mischung nochmals gut verteilt war, wurden Ausstrichpräparate auf Objektträgern angefertigt und nach der Leishmanschen Methode gefärbt. Alle Versuche sind vergleichsweise beim Tiere im normalen und im Hungerzustande angestellt.

Außerdem wurden die jeweiligen Sera durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt und ferner in einigen Fällen das Serum des hungernden Tieres durch das des normalen und umgekehrt.

1) Journ. of Med. Res., Vol. 19.
2) Bioch. Zeitschr., Bd. 3, 7, 9.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wegen der Unmöglichkeit, jedesmal die in jedem einzelnen Leukocyten enthaltene Bakterienzahl zu ermitteln, habe ich mich auf die Feststellung der phagocytierenden und der nicht phagocytierenden Leukocyten beschränkt; das Verhältnis dieser beiden Zahlen gibt eine richtige Vorstellung vom Grade der Phagocytose.

Gezählt wurden jedesmal 100 Leukocyten. Die erhaltenen Resultate stelle ich in den folgenden Tabellen zusammen.

Tabelle I.

Untersuchungsmaterial	Leukocyten	
	phagocytierende	nicht phagocytierende
Serum vom hungernden Huhn [1]) + Leukocyten dgl. + Bakteriensuspension	68	32
Serum vom normalen Huhn + Hungerleukocyten + Bakteriensuspension	65	35
Kochsalzlösung + Hungerleukocyten + Bakteriensuspension	28	72
Normales Hühnerserum + dgl. Leukocyten + Bakteriensuspension	89	11
Normales Hühnerserum + Hungerleukocyten + Bakteriensuspension	65	35
Hungerserum + normale Leukocyten + Bakteriensuspension	88	12
NaCl-Lösung + normale Leukocyten + Bakteriensuspension	31	69

Tabelle II.

Untersuchungsmaterial	Leukocyten	
	phagocytierende	nicht phagocytierende
Serum vom hungernden Huhn [2]) + Leukocyten dgl. + Bakteriensuspension	97	7
Normalserum + Hungerleukocyten + Bakteriensuspension	89	11
NaCl-Lösung + Hungerleukocyten + Bakteriensuspension	44	56
Normales Hühnerserum + dgl. Leukocyten + Bakteriensuspension	92	8
Hungerserum + normale Leukocyten + Bakteriensuspension	91	9
NaCl-Lösung + normale Leukocyten + Bakteriensuspension	24	76

1) 7. Tag. Impfung: Tod am 3. Tage an Milzbrand.

2) 6. Tag: Nach der Infektion mit Milzbrand übersteht das Tier diese und stirbt an Inanition.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Untersuchungsmaterial	Leukocyten	
	phagocytierende	nicht phagocytierende
Serum vom hungernden Huhn [1]) + dgl. Leukocyten + Bakteriensuspension	64	36
NaCl-Lösung + Hungerleukocyten + Bakteriensuspension	20	80
Normales Hühnerserum + normale Leukocyten + Bakteriensuspension	96	4
NaCl-Lösung + normale Leukocyten + Bakteriensuspension	14	86

Tabelle IV.

Untersuchungsmaterial	Leukocyten	
	phagocytierende	nicht phagocytierende
Serum einer hungernden Taube [2]) + Leukocyten dgl. + Bakteriensuspension	96	4
NaCl-Lösung + Hungerleukocyten von der Taube + Bakteriensuspension	32	68
Normales Taubenserum + normale Taubenleukocyten + Bakteriensuspension	94	6
NaCl-Lösung + normale Taubenleukocyten + Bakteriensuspension	40	60

Wie sich aus den Tabellen ergibt, verhalten sich die Leukocyten des normalen Huhnes im Normalserum nicht anders als im Hungerserum. Desgleichen bieten auch die Leukocyten des hungernden Huhnes eine annähernd ebenso große Phagocytose im entsprechenden Serum einerseits und im normalen Hühnerserum andererseits. Das heißt also, daß im Serum des Hungertieres keinerlei Veränderung auftritt, die die Phagocytose beeinflußt.

Dagegen zeigen die Leukocyten des Normalhuhnes ebenso wie die des hungernden in Kochsalzlösung nach einer kurzen Inkubation (20 Minuten) eine merklich geringere Phagocytose als im Serum, nach einer längeren Inkubation dagegen war,

1) 7. Tag: Uebersteht die Milzbrandinfektion, verhungert am 12. Tage.
2) 4. Tag: Injektion, stirbt an Milzbrand nach 2 Tagen.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

wie Löhlein[1]) gefunden hat, die Phagocytose in Kochsalzlösung ebenso lebhaft wie in Serum.

Die Tabellen ergeben ferner, daß einige Zahlen über die Phagocytose im Hungerzustand niedriger sind als die der Leukocyten von normalen Tieren unter analogen Bedingungen. Aber diese Zahlen stehen in keiner Beziehung zum Grade der Resistenzverminderung gegenüber der Milzbrandinfektion.

In der Tat übersteht nämlich Huhn 3, das gegenüber der Norm eine ziemlich herabgesetzte Phagocytierfähigkeit besitzt, die Milzbrandinfektion, während die Taube 1 eine normal lebhafte Phagocytose in vitro zeigt, aber dem Milzbrand erliegt. Andererseits ist bei dem Huhn 1, das an Milzbrand stirbt, die phagocytäre Fähigkeit niedriger als in der Norm, bei Huhn 2 dagegen, das die Infektion übersteht, ist sie unverändert.

Wenn demnach auch die Leukocyten bisweilen infolge des Hungerzustandes eine gewisse verminderte phagocytäre Wirksamkeit in vitro zeigen mögen, so ist diese Verminderung doch keinesfalls zu dem Schwunde der Widerstandsfähigkeit gegen die Infektion in Beziehung zu setzen.

Die zweite Versuchsreihe erstreckt sich auf das bakterizide Vermögen des Hühner- und Taubenserums im Hunger gegenüber dem der entsprechenden Tiere unter normalen Bedingungen.

Das Blut wurde in ein sterilisiertes Gefäß mit Glasperlen vermittels Kanülen aus der Axillarvene und -arterie aufgefangen. Das defibrinierte Blut wurde entweder als solches benutzt oder unter aseptischen Kautelen bis zur Serumabscheidung zentrifugiert. Die Bacillensuspension wurde nach den Angaben von Ottolenghi[2]) angefertigt, nur mit dem Unterschiede, daß ich statt einer 18--20-stündigen Bouillonkultur eine 6-stündige verwendete, die bei noch genügender Dichte aus kürzeren Fäden bestand. Die Kultur wurde lange mit Glasperlen in Kölbchen geschüttelt und dann mehrmals durch dasselbe Filter aus schwedischem Papier filtriert.

Durch dies Verfahren erhält man eine homogene Bakterienemulsion mit isolierten oder doch nur in 2- bis 3-gliedrigen Fäden zusammenhängenden Bacillen.

---

1) Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 20.
2) Atti della R. Accadem. dei Fisiocritici, Siena, Vol. 16.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Inkubationszeit betrug 2 Stunden. Die Röhrchen mit den verschiedenen Blut- und Bakterienmischungen wurden sorgfältig geschüttelt und einer Temperatur von 41° ausgesetzt. Darauf wurde in jedes Röhrchen eine stets gleiche Menge geschmolzenen Agars (10 ccm) gegossen, alles sorgfältig und rasch gemischt und in Petrische Schalen gegossen. Nach 14 bis 16 Stunden Brutschrank bei 37° wurden die Kolonien gezählt. Ich bemerke besonders, daß zur möglichsten Vermeidung der einer solchen Methode, trotz größter Sorgfalt, anhaftenden Fehler immer Doppelproben angestellt wurden. Die nachstehenden Tabellen bringen die Resultate.

Hahn I, 7. Hungertag.

	nach 2 Std. bei 40° Kolonien
Serum 1 ccm + Körperchen $^1/_2$ ccm + 0,2 Bakterienemulsion	2156 2679
Normaler Hahn.	
Serum 1 ccm + Körperchen $^1/_2$ ccm + 0,2 Bakterienemulsion	9070 7268
Aussaat: 14 753 Kolonien.	

Hahn II, 6. Hungertag.

Serum 1 ccm + Körperchen $^1/_2$ ccm + 0,1 Bakterienemulsion	1894 1955
Normaler Hahn.	
Serum 1 ccm + Körperchen $^1/_2$ ccm + 0,1 Bakterienemulsion	72 96
Aussaat: 2647 Kolonien.	

Hahn III, 7. Hungertag.

Serum 1 ccm + Körperchen $^1/_2$ ccm + 0,06 Bakterienemulsion	816 569
Normaler Hahn.	
Serum 1 ccm + Körperschen $^1/_2$ ccm + 0,6 Bakterienemulsion	1355 1447
Aussaat: 5359 Kolonien.	

Hahn IV, 7. Hungertag.

Serum 1 ccm + Körperchen — ccm + 0,06 Bakterienemulsion	693 695
Normaler Hahn.	
Serum 1 ccm + Körperchen — ccm + 0,06 Bakterienemulsion	84 112
Aussaat: 11 272 Kolonien.	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	nach 2 Std. bei 40° Kolonien
Taube I, 3. Hungertag.	
Defibriniertes Blut 1 ccm + 0,5 Bakterienemulsion	186 258
Normale Taube.	
Defibriniertes Blut 1 ccm + 0,5 Bakterienemulsion Aussaat: 1728 Kolonien.	450 499
Taube II, 3. Hungertag.	
Defibriniertes Blut 1 ccm + 0,5 Bakterienemulsion	1201 1509
Normale Taube.	
Defibriniertes Blut 1 ccm + 0,5 Bakterienemulsion Aussaat: 5020 Kolonien.	560 450

Aus den Versuchen erhellt, daß das Blut derjenigen Hühner und Tauben, die infolge des Hungerns milzbrandempfänglich geworden waren, noch eine merkliche bakterizide Kraft gegenüber dem Milzbrandbacillus besitzt, ja, daß in der Hälfte der Fälle (Hahn I und III und Taube I) durch das Hungertier mehr Bacillen vernichtet wurden als durch das normale.

Um diese Tatsache durch besondere Veränderungen im Hungerblute zu erklären, könnte man an die stark bakterizide Wirksamkeit der Lipoide denken, die im Blute einiger Säugetierarten während des Hungers vermehrt gefunden worden sind. Aber abgesehen davon, daß Angaben über Lipoide im Blut hungernder Vögel fehlen, steht diese Hypothese deshalb auf sehr unsicheren Füßen, weil die Analysenzahlen der Lipoide im immunen Tier, verglichen mit denen beim empfänglichen Tier, keinen Anhalt für die vermutete Beziehung zwischen Immunität und Lipoidgehalt ergeben [Fukuhara[1])]. Andererseits war in der anderen Hälfte der Fälle das bakterizide Vermögen des Hungertieres geringer als dasjenige des normalen, und wollte man diese Erscheinung wirklich vom Hungern abhängen lassen, so könnte man wohl an die Leukopenie denken, die bisweilen im Hungerblute beobachtet worden ist.

Da also einerseits die Unterschiede in der Bakterizidie bei hungernden Hühnern und Tauben in beiden Hälften der

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuche in entgegengesetztem Sinne ausgefallen sind, andererseits Schwankungen des bakteriziden Vermögens in denjenigen Grenzen von Zu- und Abnahme, die ich bei Hungertieren festgestellt habe, auch bei normalen zur Beobachtung gelangen, scheint es mir nicht berechtigt, den hervorgehobenen Schwankungen irgendeine Bedeutung im Sinne des Zusammenhanges mit dem Hungerzustande zuzuschreiben.

Die dritte Versuchsreihe behandelt das Verhalten der Bacillen und Leukocyten im Unterhautgewebe von normalen und von hungernden Hühnern und Tauben.

In eine oder mehrere, unter Vermeidung kleiner Blutungen angelegte Hauttaschen wurde den Tieren eine Oese junger Milzbrandkultur einverleibt. Die Ränder der kleinen Wunde wurden dann zusammengelegt und so die Tasche mit Heftpflaster verschlossen. Nach verschiedenen Zeitpunkten wurden Präparate des Tascheninhalts angefertigt, die in Methylalkohol fixiert und nach Serafini gefärbt wurden. Die verwendete Milzbrandkultur tötete ein Meerschweinchen in etwa 48 Stunden.

Ich führe nun kurz die Versuchsprotokolle an.

1. Normales Huhn.

Nach 5 Stunden: Die Bacillen größtenteils wohl erhalten, nur einige gequollen, mit abgerundeten Enden, schlecht färbbar. Aeußerst selten sind mit Kapseln versehene Bacillen. Zahlreiche Leukocyten, fast sämtlich viele Bacillen fressend.

Nach 8 Stunden: Bacillen spärlich und kurze Fäden; fast alle zeigen Entartungserscheinungen; reichlich Leukocyten, viele mit kleinen ungefärbten Schollen im Innern des Protoplasmas (Bacillenreste?).

Nach 24 Stunden: Aeußerst spärliche dünne Bacillen; weniger zahlreiche Leukocyten, in deren Innerem keine Bacillenreste sichtbar sind.

2. Normales Huhn.

Nach 3 Stunden findet sich in der Hauttasche seröse Flüssigkeit; zahlreiche, größtenteils wohl erhaltene, nicht eingekapselte Bacillen, von denen einige jedoch dicker als Kulturbacillen erscheinen; kurze Fäden mit gut unterschiedenen Abteilungen zwischen den einzelnen Gliedern; zahlreiche Leukocyten, lebhafte Phagocytose.

Nach 5 Stunden: Wenige gut erhaltene Bacillen; größtenteils zeigen sie abgerundete Enden, Vakuolen und Schwellung; reichlich Leukocyten, mäßige Phagocytose.

Nach 12 Stunden: Sehr spärliche dünne isolierte Bacillen, reichlich Leukocyten, ungefärbte Bacillenreste im Protoplasma. Die Kultur aus der Impfstelle bleibt steril.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Huhn am 7. Hungertage.

Nach 2 Stunden: Zahlreiche, größtenteils gut erhaltene Bacillen, sehr wenige Leukocyten, von denen nur einzelne hier und da einige Bacillen fressen.

Nach 4 Stunden: Noch immer zahlreiche Bacillen, fast alle gut erhalten, verschiedene mit Kapseln versehen; spärliche Leukocyten, geringe Phagocytose.

Nach 8 Stunden: Sehr viele, fast durchweg eingekapselte Bacillen; Leukocyten in geringer Menge, wenig Phagocytose.

Der Hahn stirbt 20 Stunden nach der Infektion. An der Impfstelle findet sich Oedem und mikroskopisch sehr zahlreiche eingekapselte Bacillen, spärliche Leukocyten und äußerst wenig Phagocyten.

Aus sämtlichen Organen und aus dem Herzblut gehen Milzbrandkulturen an.

4. Huhn am 8. Hungertage.

Nach 12 Stunden ist Oedem an der Impfstelle vorhanden, das später leicht hämorrhagisch wird. Der Hahn stirbt etwa 50 Stunden später. In Präparaten aus der Impfstelle finden sich nicht zahlreiche, aber gut erhaltene und mit Kapseln versehene Bacillen, sehr spärliche Leukocyten, keine Phagocytose. In der Milz und im Herzblut sieht man auch eingekapselte Bacillen. Die Kulturen aus der Infektionsstelle, aus den inneren Organen und aus dem Herzblut sind positiv.

5. Huhn am 5. Hungertage.

Nach 5 Stunden: Wenig wässerige Flüssigkeit, zahlreiche nicht eingekapselte, aber gut erhaltene Bacillen. Fast alle erscheinen dicker als Kulturbacillen. Mäßig zahlreiche Leukocyten, wenige und nur äußerst spärlich in Phagocytose.

Nach 12 Stunden: Zahlreiche, fast durchweg gut erhaltene Bacillen. Verschiedene plump, fast viereckig mit hellerem und vakuolisiertem Zentrum, einige ungefärbt. Mehrere mit schönen Kapseln, kurze, bambusartige Fäden, mäßig zahlreiche Leukocyten, keine Phagocytose.

Nach 24 Stunden: Sehr wenige, nicht eingekapselte, gequollene Bacillen von Bandform, verschiedene leere Kapseln. Viele Leukocyten, keine Phagocytose. Die Kultur aus der Impfstelle bleibt negativ.

Das Huhn stirbt an Hunger am 9. Hungertage. Die Kulturen aus den inneren Organen und dem Herzblut bleiben steril.

6. Huhn am 7. Hungertage.

Nach 5 Stunden: Zahlreiche Bacillen, kurze Fäden, fast durchweg mit Kapseln. Aeußerst spärliche Leukocyten, keine Phagocytose.

Nach 11 Stunden: Zahlreiche, fast sämtlich eingekapselte und gut erhaltene Bacillen, wenig Degenerationsformen und helle leere Kapseln. Leukocyten in mäßiger Zahl, keine Phagocytose.

Nach 18 Stunden: Sehr zahlreiche Bacillen, oft schlecht färbbar, fragmentiert, gequollen, vakuolisiert. Nur wenige, eingekapselte und gut

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

erhaltene Bacillen. Sehr zahlreiche Leukocyten, von denen einige einen oder zwei Bacillen gefressen haben.

Nach 24 Stunden: Wenig seröse Flüssigkeit, spärliche dünne Bacillen ohne Kapsel. Verschiedene Entartungsformen. Zahlreiche Leukocyten, von denen einige im Protoplasma hier und da Bacillenreste zeigen.

Das Huhn stirbt an Hunger. Die Kulturen aus der Impfstelle der verschiedenen inneren Organe und des Herzblutes bleiben steril.

7. Huhn am 6. Hungertage.

Nach 5 Stunden: Das Unterhautgewebe an der Impfstelle etwas sukkulent, nicht sehr zahlreiche, vielfach sehr blasse, bandförmige, gequollene Bacillen. Wenig kurze Fäden mit schönen Kapseln. Mäßig zahlreiche Leukocyten, von denen mehrere Bacillen gefressen haben, die ungefärbt sind.

Nach 18 Stunden: Spärliche Bacillen ohne Kapseln, fast durchweg schlecht färbbar, sehr zahlreiche Leukocyten, spärliche Phagocytose.

Nach 24 Stunden: Hier und da ein noch färbbarer Bacillus, viele Leukocyten. Der Hahn stirbt an Inanition. Kulturen aus den inneren Organen und aus der Impfstelle bleiben steril.

8. Normale Taube.

Nach 4 Stunden: Hellgelbliche Flüssigkeit. Sehr zahlreiche Bacillen, verschiedene davon mit engen Kapseln. Wenig zahlreiche Leukocyten, die fast alle mehrere nicht eingekapselte Bacillen gefressen haben.

Nach 8 Stunden: Viele Bacillen und kurze eingekapselte Fäden. Viele stark gefärbt und dicker als Kulturbacillen. Einige Kapseln, die leer sind oder einen zu einem gleichmäßigen dünnen Fädchen geschrumpften oder an den Enden verdickten Bacillus enthalten. Vermehrte Leukocyten in lebhafter Phagocytose.

Nach 24 Stunden: Sehr zahlreiche Bacillen, vielfach isoliert und kurze Fäden; nur wenige, besonders die Fäden, haben Kapseln. Nicht gerade häufige Degenerationsformen. Sehr zahlreiche Leukocyten, vielfach in Phagocytose.

Nach 30 Stunden: Bacillen noch in mäßiger Zahl, nur sehr wenige haben Kapseln und normales Aussehen. Verschiedene Kapseln, die mit der Serafinischen Färbung eine blaßviolette Farbe angenommen haben, enthalten im Innern einen dünnen blauen Strich, der gekerbt und an den Enden verdickt ist. Zahlreiche Leukocyten, von denen viele in ihrem Protoplasma mehrere schlecht oder gar nicht gefärbte Bacillen enthalten.

Nach 36 Stunden: Wenig gut erhaltene Bacillen ohne Kapseln. Viel degenerierte. Sehr zahlreiche Leukocyten, lebhafte Phagocytose.

Nach 48 Stunden: Wenige unversehrte Bacillen, durchweg ohne Kapseln. Zahlreiche Leukocyten, von denen einige im Protoplasma ungefärbte Bacillen enthalten.

Nach 72 Stunden: Aeußerst spärliche Bacillen von normalem Aussehen. Verminderte Leukocyten, von denen viele noch Bacillenreste enthalten. Die Kultur aus dem Unterhautgewebe bleibt steril.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

9. Normale Taube.

Nach 2 Stunden: Zahlreiche Bacillen, kurze Fäden ohne Kapseln; verschiedene Entartungsformen. Nicht zahlreiche Leukocyten, mehrere in Phagocytose.

Nach 5 Stunden: Sehr zahlreiche Bacillen, nur wenige davon mit engen Kapseln oder stark gefärbt und dicker als Kulturbacillen. Etwas zahlreichere Leukocyten, die lebhaft fressen.

Nach 24 Stunden: Zahlreiche, nicht eingekapselte Bacillen, die zum großen Teil auf ungefärbte Körner reduziert sind. Zahlreiche Leukocyten, lebhafte Phagocytose.

Nach 36 Stunden: Wenige entartete Bacillen; noch zahlreiche Leukocyten, von denen verschiedene ungefärbte Bacillen einschließen. Die Kultur bleibt steril.

10. Taube am 2. Hungertage.

Nach 6 Stunden: Sehr zahlreiche Bacillen, kurze Fäden aus fast quadratischen Gliedern. Verschiedene vakuolenhaltig und mit abgerundeten Enden. Mehrere andere mit engen Kapseln. Spärliche Leukocyten, von denen fast alle mehrere Bacillen gefressen haben.

Nach 12 Stunden: Zahlreiche Bacillen, aber nur sehr wenige mit Kapseln. Viele ungefärbte, zu Körnern reduzierte. Vermehrte Leukocyten, die fast sämtlich mehrere ungefärbte Bacillen gefressen haben.

Nach 24 Stunden: Oedem; sehr üppige Bacillen, verschiedene eingekapselte, wenige degenerative Formen; spärliche Leukocyten, keine Phagocytose.

Nach 30 Stunden: Zahlreiche Bacillen. Viele mit engen Kapseln; spärliche Degenerationsformen. Wenig Leukocyten, von denen sehr wenige fressen.

Nach 48 und 55 Stunden ist das mikroskopische Bild nahezu mit dem vorhergehenden identisch, nur die Leukocytenzahl nimmt ab. Die Taube stirbt an Milzbrand etwa 70 Stunden nach der Infektion. Bei der Sektion findet sich reichliches Oedem, das sich weit in die Impfstelle erstreckt. Bei der mikroskopischen Untersuchung sieht man sehr zahlreiche Bacillen, fast sämtlich eingekapselt und gut erhalten. Leere, gequollene wie in Auflösung begriffene Kapseln; andere Kapseln haben festronartige Ränder, enthalten aber den deutlich gefärbten Bacillenleib. Bacillen mit abgerundeten Enden, solche, die zu Granula reduziert sind. Sehr spärliche Leukocyten, keine Phagocytose.

Ausstrichpräparate aus der Milz und dem Herzblut ergeben Bacillen mit schönen Kapseln. Aus den Kulturen von dem Oedem der Milz und dem Herzblut entwickelt sich reichlich Milzbrand.

11. Taube am 4. Hungertage.

Nach 2 Stunden: Sehr zahlreiche Bacillen, verschiedentlich dichter als Kulturbacillen, einige eingekapselt. Sehr spärlich Leukocyten und selten solche, die fressen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach 5 Stunden: Noch immer zahlreiche Bacillen, viele mit engen Kapseln, verschiedene Degenerationsformen, spärliche Leukocyten, wenige fressend.

Nach 24 Stunden: Noch immer zahlreiche Bacillen, verschiedene eingekapselte, wenige degenerative Formen, seltene Leukocysen, fast gar keine Phagocytose.

Nach 48 Stunden: Sehr zahlreiche Bacillen, viele eingekapselt. Wenig Leukocyten, spärliche Phagocytose.

Die Taube stirbt an Milzbrand etwa 60 Stunden nach der Infektion.

An der Impfstelle finden sich sehr zahlreiche eingekapselte Bacillen und viele Degenerationsformen. Wenige nicht phagocytierende Leukocyten.

In Ausstrichpräparaten aus Milz und Herzblut sieht man Bacillen mit engen Kapseln.

Kulturen positiv.

Aus den Protokollen geht hervor, daß bei dem unter normalen Bedingungen lebenden Huhn sich schon in den ersten Stunden nach der Infektion eine merkliche Zerstörung von Bacillen zeigt, während die Kapselformen fehlen oder äußerst selten sind. Die Leukocyten stellen sich sofort reichlich ein und fressen lebhaft.

Beim hungernden Huhne dagegen, das an Milzbrand stirbt, findet sich rasche Vermehrung der Bacillen, von denen einige schon wenige Stunden nach der Infektion mit Kapseln versehen sind. Die Degenerationsformen sind selten, die Leukocyten sehr spärlich, die Phagocytose äußerst schwach. In der Folge nehmen die Bacillen noch an Zahl zu und viele besitzen Kapseln. Die Leukocyten, deren Zahl dürftig bleibt, fressen nur wenig. Beim Tode des Tieres bieten die Präparate aus der Impfstelle dasselbe Aussehen wie eben beschrieben; die Ausstrichpräparate aus Milz und Herzblut zeigen eingekapselte Bacillen.

Beim hungernden Huhn, das aber der Infektion widersteht, findet sich in den ersten Stunden üppige Bacillenwucherung und Kapselbildung, während die Leukocyten spärlich sind und wenig fressen. Späterhin (nach 12 Stunden) zeigen die noch immer reichlichen und zum Teil noch eingekapselten Bacillen schon in großen Mengen Entartungserscheinungen. Die Leukocyten werden sehr zahlreich, die Phagocytose bleibt gering oder fehlt vollständig. Während dann noch später die Leukocytenansammlung immer bedeutender wird, verschwinden die

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

gut erhaltenen eingekapselten Formen, während sich zwischen den Zellen die Zahl der abgestorbenen Bacillen mächtig vermehrt.

Bei der gefütterten Taube bleiben trotz einer von den ersten Stunden an bemerklichen Leukocytenansammlung und lebhafter Phagocytose die Bacillen doch länger als beim Huhn vorhanden und sind, wenn auch in spärlicher Zahl, imstande, Kapseln zu bilden.

Bei der hungernden Taube jedoch wuchern die Bacillen sehr stark und bilden Kapseln, die bis zum Tode des Tieres bestehen bleiben. Die Leukocytenanhäufung ist gering und nimmt mit dem Nahen des Todes immer weiter ab.

Man kann nicht umhin, anzuerkennen, daß im Zusammenhang mit der Resistenz des Organismus und mit dem Auftreten der Krankheit und ihrem weiteren Verlauf der Bacillus ein besonderes Verhalten zeigt. Dieses äußert sich bei den Tieren, die ihre Immunität behalten, in anderer Weise, als bei denjenigen, die sie vollständig verlieren.

In gleichem Maße mit diesen Umwandlungen des Bacillus ändert sich die Intensität der Leukocytenansammlung in dem Sinne, daß bei den Tieren, in denen sich Kapseln bilden und in den Perioden, in denen sie sich erhalten, Leukocyten spärlich sind, während dort, wo keine Kapselbildung stattfindet oder wieder verloren geht, die Leukocytenanhäufung erheblich ist. Außerdem besteht lebhafte Phagocytose, wo sich keine Kapseln bilden, während sie beinahe fehlt, wenn viele eingekapselte Bacillen vorliegen und im allgemeinen gering bleibt, während die Kapseln verschwinden.

In den Phagocyten sieht man auch, wenn sie sich in Herden mit zahlreichen eingekapselten Bacillen finden, nur nackte Bacillen.

Es besteht also zweifellos eine Beziehung zwischen der Kapselbildung, der Empfänglichkeit und der Leukocytenansammlung. Es ergab sich daraus mit logischer Notwendigkeit die Frage, ob die Resistenz gegen die Infektion auf das Fehlen von Kapselbildung zu schieben sei und warum diese sich bei den immunen Tieren nicht einstellt.

Es ist bekannt, daß sich Milzbrandbacillen einkapseln, wenn sie im Serum von empfänglichen Tieren gezüchtet werden,

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

ebensogut wie von immunen. Wie aus den Untersuchungen von Preisz und mir hervorgeht, erhält man auch in Celloidinschläuchen im Unterhautgewebe von Hühnern und Tauben reichliche Kapselbildung. Es bestehen folglich in den Säften der immunen Organismen die zur Kapselbildung notwendigen Bedingungen. Warum tritt sie trotzdem nicht auf?

Gruber und Futaki, sowie Preisz sind der Meinung, daß die Bacillen keine Kapseln bilden können, weil sie im Unterhautgewebe der immunen Tiere rasch vernichtet werden, und zwar meinen die ersten, daß die bakteriziden Substanzen (Huhn) von den Leukocyten stammen, während der zweite die Beteiligung der Leukocyten ausschließt. Der letztere Autor hat tatsächlich beobachtet, daß einem toten Huhn unter die Haut gebrachte Milzbrandbacillen, die bei 37° gehalten wurden, keine Kapseln bildeten und schnell untergingen.

Ich habe die Kulturversuche auf Hühner- und Taubenserum wiederholt, um sie mit dem Wachstum und der Kapselbildung in dem Serum gleichartiger, aber im Hungerzustand befindlicher Tiere zu vergleichen und habe allerdings keinen Unterschied gefunden. Auch in Celloidinschläuchen im Unterhautgewebe erhielt ich sowohl beim normal gefütterten, wie beim hungernden Tier reichliche Kapselbildung.

Die Substanzen (?), die also die Kapselbildung bewirken, sind demnach nicht wesentlich in dem durch Inanition sensibilisierten Tier verändert.

Aus meinen Versuchen ergab sich jedoch, daß beim Fehlen von Infektion und Kapselbildung eine beträchtliche Leukocytenansammlung stattfindet. Ich habe mir daher die Frage vorgelegt, ob diese nicht eventuell auch einen gewissen Einfluß auf die Kapselbildung haben könnten.

Aus den Bailschen Untersuchungen wissen wir, daß Organzellen und Leukocyten in hohem Maße die Fähigkeit besitzen, das Serum seiner für die Kapselbildung günstigen Eigenschaften zu berauben; allerdings kann man es nicht, wie Bail will, für voll erwiesen betrachten, daß die Kapselbildung auf einem besonderem Serumbestandteil beruht, der nach dem Zusatz von Organbrei, Leukocyten, oder infolge der Entwicklung von Mikroorganismen zugrunde geht. Man kann

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allein zugeben, daß die Gegenwart bestimmter Stoffe im Serum seine für die Kapselbildung günstigen Bedingungen abändert.

Ich habe einige Kulturversuche im Hühnerserum mit oder ohne Zusatz von Leukocyten derselben Tierart angestellt (erhalten aus dem Peritoneum nach einer Bouillon-Injektion). Hierbei habe ich beobachtet, daß im reinen Serum üppige Kapselbildung auftritt, im Serum mit Leukocytenzusatz die Bildung dagegen gering war.

Angesichts des Einflusses der Leukocyten auf die Kapselbildung im Serum könnte man auch annehmen, daß sie nicht dem Serum die spezifisch kapselbildende Substanz entziehen, sondern direkt auf die Bacillen eine der Kapselbildung hinderliche Wirkung ausüben.

Daher habe ich versucht, ob die Leukocyten auch dann, wenn sie einem Serum zugesetzt wurden, das schon zahlreiche eingekapselte Bacillen enthielt, die Kapseln zum Verschwinden bringen können. Es ergab sich, daß in den ersten (4—6) Stunden nach Zufügung der Leukocyten die Kapseln in nahezu gleicher Anzahl wie im Kontrollröhrchen vorlagen, aber man sah mehrere Bacillen mit abgerundeten Enden, Vakuolen, gekörntem Protoplasma oder solche, die auf einen dünnen Faden innerhalb der Kapsel eingeschrumpft waren, ferner bandförmige Fäden, leere Kapseln und seltene phagocytierte eingekapselte Bacillen. In den Kontrollröhrchen dagegen fand üppigere Wucherung statt und es fanden sich nur spärliche Degenerationsformen. Weiterhin wurden die Unterschiede der beiden Röhrchen mit Bezug auf die Kapsel nicht deutlicher, so daß also aus diesen Experimenten in vitro kein Einfluß der Leukocyten auf die Beseitigung schon gebildeter Kapseln hervorging, wohl aber eine schädliche Einwirkung nicht nur auf kapsellose, sondern auch auf eingekapselte Bacillen.

Ob die eingekapselten Bacillen einen Zustand gesteigerter Resistenz darstellen, kann ich auf Grund meiner Versuche nicht angeben. Aber aus ihnen geht doch so viel hervor, daß beim Zustandekommen der Infektion die Bacillen sich verkapseln. Ich halte demnach diese Umwandlung für eine morphologische Aenderung des Bacillus, die mit seiner Virulenz, bezw. mit der Empfänglichkeit des geimpften Tieres verknüpft ist. Gegenwart von Leukocyten hemmt diese Umwandlung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie schon erwähnt, hat Preisz von der Vorstellung aus, daß die Bacillen im Unterhautgewebe des Huhns ohne Teilnahme der Leukocyten getötet werden, unter die Haut eines toten Huhns einen mit Kultur getränkten Seidenfaden gebracht und dabei schon nach 6 Stunden starke Degeneration gefunden, nach 24 Stunden Ausbleiben einer Bacillenentwicklung aus dem Faden in einem Agarröhrchen. Die Kapselbildung fehlte.

Preisz bemerkt zwar selbst, daß mit dem Aufhören des Lebens nicht nur die Auswanderung der Leukocyten fehlt, sondern auch andere Faktoren eine Aenderung erfahren, aber er glaubt trotzdem, auch beim lebenden Huhn den Tod der Bacillen ohne Teilnahme von vitalen Vorgängen erklären zu können, wenn die Bacillen im toten Huhn mit derselben Geschwindigkeit und mit gleichen Formänderungen zugrunde gehen, wie im lebenden.

Die Versuche, die ich an zwei entbluteten Hühnern angestellt habe, decken sich nicht mit denen von Preisz. Denn einmal habe ich nach 20 Stunden, das andere Mal nach 24 Stunden Milzbrandentwicklung aus dem mit Kultur getränkten Seidenfaden bekommen, der unter der Haut der Hühner gelegen hatte. Außerdem fanden sich in den mikroskopischen Präparaten neben Degenerationsformen zahlreiche Bacillen und Fäden in gutem Zustand. Kapseln fehlen, nur ganz wenige Bacillen waren von einem hellen Hofe umgeben (Kapsel?).

Die Versuchsbedingungen im Kadaver sind zu sehr verändert, um daraus Schlüsse ziehen zu können. Aber die Tatsache steht doch fest, daß nicht immer im Unterhautgewebe des toten Huhnes die Bacillen ebenso wie im lebenden vernichtet werden. Außerdem ist es belanglos, daß im Leichnam wie beim lebenden Tiere keine Kapselbildung zustande kommt, denn nach meinen Beobachtungen fehlt sie auch im Unterhautgewebe des Meerschweinchenkadavers[1]). Demnach ist

1) In dem 3. Hefte des 53. Bandes des Centralbl. f. Bakt., Orig., erschienen den 2. Februar 1910, veröffentlichte Nunokawa eine Arbeit „Ueber das Wachstum der Milzbrandbacillen im toten Tierkörper", in welcher er zu dem meinigen entsprechenden Schlusse kommt, daß im Kadaver die günstigen Verhältnisse für die Kapselbildung verloren gehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bisher nicht erwiesen, daß das Ausbleiben der Kapselbildung und die Bacillenzerstörung nicht an Lebensvorgänge im Organismus geknüpft sind. Auf Grund meiner in vivo und in vitro angestellten Experimente glaube ich vielmehr, daß die Leukocyten, wenn auch nicht als Freßzellen, so doch durch ihre, Fähigkeit besondere Stoffe abzuscheiden, die Bildung der Kapseln hemmen, die Bakterien zerstören und so der Entwicklung der Infektion entgegentreten.

Zusammenfassung.

Die in vitro angestellten Versuche über Phagocytose und Bakterizidie geben keine Erklärung für die natürliche Immunität der Hühner und Tauben gegenüber Milzbrand. Denn die gelegentlich im Vergleich zum gefütterten Tiere beim Hungertiere verminderte Phagocytose geht nicht mit dem Verschwinden der Immunität einher und physiologischer und Hungerzustand verändern nicht wesentlich die bakterizide Eigenschaft des Blutes. Zwischen Infektion und Kapselbildung besteht ein enger Zusammenhang. Ohne den eingekapselten Formen größere Widerstandsfähigkeit zuzuschreiben, muß man daher doch die Kapseln für eine Umwandlung des Bacillus halten, die allemal an seine Infektionsfähigkeit gebunden ist.

Die Kapsel macht die Bacillen ungeeignet zur Phagocytose, schützt sie dagegen nicht vor den gelösten bakteriziden Substanzen.

Die Leukocyten verhindern die Kapselbildung und vernichten die Bacillen, nicht sowohl durch ihre Freßtätigkeit, als durch gelöste Substanzen.

Ich bin also der Meinung, daß die Ursache für die natürliche Immunität der Hühner und Tauben gegen Milzbrand in der raschen und reichlichen Leukocytenanhäufung um die Impfstelle zu suchen ist.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien.]

Beiträge zur Lehre von der Anaphylaxie.

Von Privatdozent **R. Doerr** und Dr. **J. Moldovan.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Januar 1910.)

Der anaphylaktische Symptomenkomplex ist nach Friedbergers Theorie als eine Eiweiß-Antieiweißreaktion in vivo aufzufassen. Das reinjizierte Antigen (Anaphylaktogen) verbindet sich mit dem an lebenswichtigen Zellen sitzenden, „sessilen" Antikörper und durch Hinzutritt des Komplementes wird jene Zellschädigung erzeugt, welche dem anaphylaktischen Shock zugrunde liegt. Das Anaphylaktogen und Präzipitinogen sind nach Friedberger untereinander und mit dem artspezifischen Eiweiß identisch, der anaphylaktische Immun- oder Reaktionskörper ist nichts anderes als das sogenannte Präzipitin, d. h. jene Substanz, welche mit artspezifischem Eiweiß in vitro unter Niederschlagsbildung und Komplementverbrauch reagiert. Präzipitierende und komplementbindende Fähigkeit sind nur verschiedene Funktionen ein- und desselben Antikörpers, welche bloß insofern differieren, als sie miteinander nicht völlig parallel gehen müssen, indem die Komplementfixation einen feineren Indikator für die Eiweiß-Antieiweißreaktion in vitro darstellt als das Phänomen der Ausflockung.

In der Tat gelang es bald darauf Doerr und Russ nachzuweisen, daß im Serum von Kaninchen, welche mit heterologem Eiweiß immunisiert wurden, ein auffälliger Parallelismus zwischen dem Gehalt an anaphylaktischem Reaktionskörper und an Präzipitin bestehe, und sie verwerteten diese Beobachtung im Sinne Friedbergers als ein Argument für die Identität der beiden Immunsubstanzen. Es ist nun gegen diese Schlußfolgerung von verschiedenen Seiten der Einwand erhoben worden, daß dieser Parallelismus gar nicht existiert. Soweit es sich dabei um ältere Angaben handelt

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

(Otto), erscheinen dieselben durch die Versuche von Doerr und Russ, die sich als erste einer quantitativen Methodik bedienten, überholt und vorläufig gegenstandslos (Friedberger). Doch finden sich auch in der neueren Literatur Beispiele dafür angeführt, daß es Sera gibt, die trotz fehlenden Präzipitingehaltes doch sehr wohl imstande sind, passiv Anaphylaxie zu übertragen, die also anaphylaktischen Reaktionskörper besitzen müssen (Kraus und Novotný). Doerr und Russ selbst beschreiben in ihrer Publikation zwei Antieiweißsera, die passiv anaphylaktisierten ohne zu präzipitieren; doch gaben sie spezifische Komplementablenkung.

Wir möchten nun vor allem auf eine Fehlerquelle aufmerksam machen, welche bei der üblichen Methode des Präzipitinnachweises nach Uhlenhuth zu falschen Schlußfolgerungen verleiten kann und sicher auch schon verleitet hat. Bei dieser Methode fügt man 0,1—0,2 ccm Immunserum zu 1—2 ccm fallender Antigenmengen resp. steigender Antigenverdünnungen. Dieses Verfahren ist ohne Frage sehr gut geeignet, um hochwertige Präzipitinsera vergleichsweise zu titrieren, ist aber sicher insuffizient, um geringe Präzipitinmengen nachzuweisen. Zu letzterem Zwecke muß man vielmehr größere Quantitäten Immunserum abgestuft gegen eine fixe Antigenmenge in Reaktion treten lassen, um die für die Niederschlagsbildung optimalen Verhältnisse zu erhalten. Diese Notwendigkeit ergibt sich schon daraus, daß Präzipitate bekanntlich im Antigenüberschuß löslich sind. Noch viel mehr leuchtet es aber ein, daß die Uhlenhuthsche Präzipitinbestimmung nicht angewendet werden darf, wenn man schwache Antieiweißsera auf ihren Gehalt an Präzipitin und anaphylaktischem Reaktionskörper vergleicht; man darf doch nicht in vitro 0,1 Immunserum mit 0,02 oder weniger Antigen und im Tiere 1,0—2,0 Immunserum mit 0,5 Antigen zusammenbringen und aus der ungleichen Reaktion auf eine Verschiedenheit der reagierenden Körper schließen. Das wäre ein grober Fehler.

Wir haben nun in der Tat Sera gefunden, welche nach dem Ausfall der gewöhnlichen Prüfungsmethode scheinbar kein

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Präzipitin enthielten, bei Aenderung der Mengenverhältnisse aber Ausflockung gaben. Bei ihnen sowohl wie bei anderen Seris fiel im Reihenversuche die präzipitierende Dosis in geradezu frappanter Weise zusammen mit der Menge, welche das Meerschweinchen passiv anaphylaktisch machte. Ein paar Beispiele seien hier zitiert:

I. Serum 428 (Antirinderserum vom Kaninchen).

Präzipitingehalt,

bestimmt, indem zu fallenden Mengen Immunserum je 0,2 Rinderserum hinzugefügt wurde. Reaktionsvolum 2,0 ccm. Abgelesen nach 2-stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° C.

Menge des Serums 428	Resultat der Fällungsreaktion mit 0,2 Rinderserum
0,5	+++
0,3	+++
0,1	++
0,08	++
0,05	+
0,03	0

Gehalt an anaphylaktischem Reaktionskörper.

M.	75	erhält	0,5	Ser.	428	ip.,	nach	24h 0,2	Rinders.	iv.	† 5′
„	76	„	0,3	„	428	„	„	24h 0,2	„	„	schwerste Sympt.
„	77	„	0,1	„	428	„	„	24h 0,2	„	„	† 5′
„	78	„	0,08	„	428	„	„	24h 0,2	„	„	† 5′
„	79	„	0,05	„	428	„	„	24h 0,2	„	„	schwere Sympt.
„	80	„	**0,03**	„	428	„	„	24h 0,2	„	„	0

II. Serum 406 (Antimenschenserum vom Kaninchen).

Präzipitingehalt.

Menge des Immunserums	Resultat des Fällungsversuches mit 0,2 Menschenserum
0,5	+++
0,3	+++
0,1	++
0,08	++
0,05	+
0,03	0

Gehalt an Reaktionskörper.

M.	95	erhält	0,5	Ser.	406	ip.,	nach	24h 0,2	Menschens.	iv.	† 5′
„	96	„	0,3	„	406	„	„	24h 0,2	„	„	† 5′
„	97	„	0,1	„	406	„	„	24h 0,2	„	„	† 5′
„	98	„	0,08	„	406	„	„	24h 0,2	„	„	† 5′
„	99	„	0,05	„	406	„	„	24h 0,2	„	„	deutl. Sympt.
„	100	„	**0,03**	„	406	„	„	24h 0,2	„	„	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

III. Serum 405 (Antimenschenserum vom Kaninchen).

Präzipitingehalt.

Menge des Immunserums	Resultat des Fällungsversuches mit 0,2 Menschenserum
0,5	+++
0,3	+++
0,1	+
0,08	+
0,05	θ
0,03	θ

Gehalt an Reaktionskörper.

M.	35	erhält	0,5	Ser.	405	ip.,	nach	24ʰ 0,2	Menschens.	iv.	† 5′
„	36	„	0,3	„	405	„	„	24ʰ 0,2	„	„	schwerste Sympt.
„	37	„	0,1	„	405	„	„	24ʰ 0,2	„	„	Spur
„	38	„	0,08	„	405	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ
„	39	„	0,05	„	405	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ
„	40	„	0,03	„	405	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ

IV. Serum 439 (Antihammelserum).

Präzipitingehalt.

Menge des Immunserums	Resultat des Fällungsversuches mit 0,2 Hammelserum
0,5	++
0,3	+
0,1	θ
0,08	θ
0,25	θ
0,03	θ

Gehalt an anaphylaktischem Reaktionskörper.

M.	48	erhält	0,5	Ser.	439	ip.,	nach	24ʰ 0,2	Hammel	iv.	+ 5′
„	49	„	0,3	„	439	„	„	24ʰ 0,2	„	„	schwerste Sympt.
„	50	„	0,1	„	439	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ
„	51	„	0,08	„	439	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ
„	52	„	0,05	„	439	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ
„	53	„	0,03	„	439	„	„	24ʰ 0,2	„	„	θ

V. Serum 472 (Antirinderserum vom Hunde).

Das Serum vermochte in größeren Mengen Meerschweinchen passiv anaphylaktisch zu machen.

Nach Uhlenhuth geprüft, enthielt es aber keine Präzipitine:

0,1 Ser. 472 + 1,0 10-fach verd. Rinders. gab nach 2ʰ bei 37° keinen Niederschl.

Bei der Ueberschichtungsmethode bildete sich aber an der Berührungsstelle von Antigen und Antiserum sofort ein mächtiger Trübungsring.

Aus diesen Vergleichen geht also hervor, daß man ein Eiweißantiserum nicht präzipitinfrei erklären darf, wenn 0,1 ccm desselben in 1 ccm konzentrierten oder verdünnten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antigens keinen Niederschlag hervorruft. Um eine solche Behauptung aufstellen zu können, muß man entweder größere Mengen Immunserum prüfen oder Antigen und Immunserum überschichten. Dann erhält man noch oft positive Resultate, wenn die geläufige Probe auch kein Ergebnis hatte. So sehen wir, daß man Serum 472 und 439 bei oberflächlicher Prüfung für präzipitinfrei erklärt hätte, während das doch absolut nicht der Fall war.

Was aber bei obigen Experimentreihen besonders ins Auge fällt, ist die Erscheinung, daß jene Minimalmengen, welche in vitro Ausflockung ergaben, auch im Tiere gerade noch genügten, um anaphylaktische Symptome manifest zu machen und daß ein Herabgehen unter diese Grenze im Reagenzglase wie im Tiere ein negatives Resultat zur Folge hatte. Der Präzipitationsversuch, nach unserer Methode ausgeführt, erwies sich als ein fast in allen Punkten stimmendes Spiegelbild der Auswertung des Reaktionskörpers am Meerschweinchen, so daß wir bei den späteren Experimenten das Ergebnis nach den Fällungsreaktionen in vitro fast stets genau voraussagen konnten.

Die bisher vorliegenden Angaben über präzipitinfreie und dennoch passiv anaphylaktisierende Sera (Kraus und Novotný, Doerr und Russ u. v. a.) sind daher nicht stichhaltig und können folglich auch nicht mehr als Beweise gegen die Identität von Präzipitin und Reaktionskörper angeführt werden. Vielmehr hat sich gezeigt, daß nicht nur, wie Doerr und Russ schon früher behaupteten, ein allgemeiner Parallelismus zwischen Antigenen und Antikörpern bei der Präzipitation und Anaphylaxie besteht, sondern daß die Fällungsreaktion in vitro in quantitativer Hinsicht ganz der anaphylaktischen Reaktion im lebenden Organismus gleicht.

Aber selbst, wenn dieser weitgehende Parallelismus nicht gegeben wäre, wenn sich, mit anderen Worten, Sera fänden, die auch bei entsprechender Methodik nur in vivo, nicht aber in vitro reagieren, müßte man mit der Negation

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Identität von Präzipitin und anaphylaktischem Reaktionskörper doch vorsichtiger sein. Die stattgehabte Reaktion zwischen Eiweiß und Antieiweiß entnehmen wir im Reagenzglasversuche aus der sichtbaren Fällung in einem seiner Zusammensetzung nach wohlbekannten Reaktionsmedium, der anaphylaktische Shock ist aber nicht einfach eine Präzipitation in vivo, vielmehr tritt hier als neuer Faktor der Organismus des Versuchstieres ein, dessen Schädigung uns ja den Indikator für die erfolgte Bindung zwischen Antigen und Reaktionskörper gibt. Es ist daher wohl die Möglichkeit gegeben, daß es bei hoher Empfindlichkeit der giftempfindlichen Zelle noch gelingt, im anaphylaktischen Experiment Präzipitinmengen nachzuweisen, welche in vitro nicht mehr unter Niederschlagsbildung reagieren. Das dürfte am ehesten bei dem für heterologes Eiweiß so enorm empfänglichen Meerschweinchen eintreten können. Umgekehrt werden natürlich wenig empfängliche oder gar unempfängliche Tiere, wie z. B. Mäuse, Ratten, Kaninchen, Hunde selbst durch hochwertige Präzipitinsera nicht passiv anaphylaktisierbar sein; hier ist der Reagenzglasversuch das feinere Reagens. Die Tatsache, daß präzipitierende Antieiweißsera zwar Meerschweinchen, aber nicht Kaninchen passiv anaphylaktisieren, so zu verwerten, daß Präzipitin und Reaktionskörper nicht identisch sind (Kraus und Novotný), ist dem Gesagten zufolge, wie auch bereits Friedberger in ähnlichem Sinne bewies, unzulässig.

Der Parallelismus zwischen Präzipitation und Anaphylaxie läßt sich übrigens noch auf einem anderen Wege erweisen. Doerr und Russ zeigten bekanntlich am Meerschweinchen, daß das Präzipitat, die fertige Verbindung von Präzipitinogen und Präzipitin, toxisch ist, und Friedemann beschrieb das gleiche für Kaninchen. Wir studierten nun den Einfluß der Menge des Präzipitins und andererseits des Präzipitinogens auf die Toxizität der Niederschläge und erhielten dabei folgendes Resultat:

Versuch.

Als Präzipitin diente das Serum eines Kaninchens No. 497, welches wiederholt mit Rinderserum intravenös immunisiert worden war. Das Serum präzipitierte noch 200-fach verdünntes Rinderserum sofort und gab

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit 800-fach verdünntem nach 2-stündigem Aufenthalt bei 37° C starke Niederschläge.

Es wurde nun dieses Immunserum in wechselnden Mengenverhältnissen mit Rinderserum gemischt und die Gemenge nach 5 Minuten langem Stehen Meerschweinchen intravenös injiziert. Wenn die Niederschlagsbildung sofort eintrat, so waren diese Gemische giftig[1]).

A. Einfluß des Antigens.

M.	320	erhält	3,0	S. 497	+ 0,3	Rinderser.,	sof. schw. Sympt.,	†	nach	7h
„	321	„	3,0	„ 497	+ 0,1	„	, „ „ „	†	„	12h
„	322	„	3,0	„ 497	+ 0,05	„	, n. 30′ deutl. Sympt.,	†	„	12h
„	323	„	3,0	„ 497	+ 0,01	„	, n. 45′ „ „	†	„	12h
„	324	„	3,0	„ 497	+ 0,005	„	, n. 60′ „ „	†	„	8h
„	325	„	3,0	„ 497	+ 0,001	„	, keine Erscheinungen,	überlebt		

Hierbei konnten wir folgendes konstatieren: Während das Gemisch 3,0 ccm Serum 497 + 0,3 ccm Rinderserum sofort stark getrübt war, nahm die Intensität der momentanen Trübung mit fallendem Antigen stark ab und war beim letzten Gemisch überhaupt nicht mehr zu konstatieren.

B. Einfluß des Antikörpers.

M.	340	erhält	0,2	Rinders.	+ 2,0	S. 497, n. 10′	schw. Sympt.,	† nach	6h
„	341	„	0,2	„	+ 1,0	„ 497, n. 10′	Krämpfe,	† „	12h
„	342	„	0,2	„	+ 0,5	„ 497,	keine Erscheinungen		
„	343	„	0,2	„	+ 0,3	„ 497,	„ „		

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß nur sehr geringe Antigenmengen (0,005) erforderlich sind, um dem Gemische Giftigkeit zu verleihen, daß man dagegen mit dem Immunkörper nicht viel unter 1,0 herabgehen darf. Bei der Präzipitation herrschen ja, wie bekannt, analoge Verhältnisse, indem 0,001—0,0001 präzipitable Substanz, ja noch weniger Fällung hervorrufen, während man vom präzipitierenden Serum 0,1 ccm, wenigstens aber 0,02 ccm, zur sichtbaren Reaktion benötigt. Ferner war deutlich zu konstatieren, daß nur die vor der Injektion getrübten Gemenge auf das Tier wirkten, und daß in der Reihe A mit abnehmender Trübungsintensität die Inkubation der krankhaften Erscheinungen zunahm, offenbar, weil die außerhalb des Körpers nur eingeleitete

1) Doerr und Russ haben zuerst beschrieben, daß Gemenge von Serumantigen und Antikörper für Meerschweinchen toxisch sind. Dies geht ganz klar aus folgendem Passus hervor: „Läßt man die Mischungen stehen, bis Präzipitation eintritt, oder arbeitet man mit derart hochwertigen Immunseris, daß sofortige Ausflockung eintritt, so vermögen auch die Gemenge ähnliche Symptome wie gelöste Präzipitate hervorzubringen.“ Die Behauptung ist durch einen Versuch illustriert (diese Zeitschrift, Bd. 3, p. 206).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eiweiß-Antieiweißreaktion erst im Organismus nach wachsendem Intervall komplett wurde.

Für das Kaninchen hat Friedemann schon früher die Gleichheit der optimalen Mengenverhältnisse für Präzipitation und Auslösung anaphylaktischer Symptome durch Injektion von Eiweiß-Antieiweißgemischen festgestellt.

Durch diese Feststellungen wird aufs Neue erhärtet, daß die beim Shock wirkende Giftsubstanz aus der Einwirkung von Präzipitin auf Präzipitinogen hervorgeht, daß also das Präzipitat als die Matrix derselben zu betrachten ist. Dann muß man aber auch verlangen, daß sich die von Friedberger beim anaphylaktischen Shock beobachtete Komplementverarmung nach der Injektion gewaschener Präzipitate gleichfalls nachweisen läßt. Dies ist nun in der Tat der Fall.

Toxische Präzipitate, d. h. fertige Verbindungen von Präzipitin und präzipitabler Substanz rufen, intravenös Meerschweinchen injiziert, intensiven Komplementschwund hervor.

Versuche.

Als Präzipitine dienten ein Menschenantiserum vom Kaninchen 406 und ein Rinderantiserum vom Kaninchen 428.

Der obere Titer beider Sera war folgender:

0,1 ccm Serum 406 + 1,0 400-fach verdünnten Menschenserums gibt nach 2^h noch Niederschläge.

0,1 ccm Serum 428 + 1,0 800-fach verdünnten Menschenserums gibt nach 2^h noch Niederschläge.

Es wurden nun zwei Gemische aufgestellt:

I. 5,0 Serum 428 + 1,0 Rinderserum + 6,0 physiol. NaCl-Lösung.

II. 5,0 Serum 406 + 1,0 Menschenserum + 5,0 physiol. NaCl-Lösung.

Diese Gemenge wurden durch 8^h bei 37° C und durch weitere 8^h bei Zimmertemperatur stehen gelassen, die Präzipitate abzentrifugiert, mit der vielfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und je $^1/_5$ derselben (= dem Präzipitat aus 1,0 Immunserum + 0,1 Antigen) in 2,0 ccm NaCl normalen Meerschweinchen intravenös injiziert. Unmittelbar vor der Injektion wurde aus einer Jugularis Blut entnommen; sobald sich typische Symptome als Folgen der toxischen Präzipitatinjektion zeigten, wurden die Tiere aus der Cruralis entblutet. In beiden derart erhaltenen Serumproben wurden der Komplementgehalt titrativ bestimmt, und zwar in der Weise, daß zu ambozeptorbeladenen Hammelblutkörperchen (doppelt lösende Ambozeptordosis + 0,1 50-proz. Erythrocytensuspension) nach halbstündiger Bindungszeit bei 37° C fallende Dosen der zu prüfenden Sera hinzugefügt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden. Das Resultat der nach einer Stunde abgelesenen Proben wurde in der Art fixiert, daß mit +++ komplette Hämolyse, mit ++ deutliche Hämolyse, mit + Spur und mit θ Ausbleiben der Lyse bezeichnet wurde.

1.

Meerschweinchen 360 erhält $^1/_5$ Präzipitat der Mischung 1. Nach 10′ Taumeln, Somnolenz, wird entblutet. Die Komplementtitration ergab unmittelbar vor und 11′ nach der Injektion:

Komplementdosis	vor der Injektion	nach der Injektion
0,3	+++	θ
0,1	+++	θ
0,05	+++	θ
0,03	+++	θ
0,02	+++	θ
0,01	++	θ
0,005	θ	θ

2.

Meerschweinchen 307 erhält $^1/_5$ des Präzipitates der Mischung 2 iv. Nach 15′ Taumeln, somnolent, wird entblutet. Die Komplementtitration ergab:

Komplementdosis	vor der Injektion	16′ nach der Injektion
0,3	+++	++
0.1	+++	++
0,05	+++	+
0,03	+++	θ
0,02	+++	θ
0,01	++	θ
0,005	θ	θ

Als Folge der toxischen Präzipitatinjektion ergab sich also eine bedeutende Komplementverarmung des Serums der Versuchstiere. Man könnte freilich annehmen, daß Eiweißniederschläge aller Art, sowie sie in vitro Komplement adsorbieren, so auch im Organismus rein mechanisch diese Substanz an sich reißen, ohne daß aber dieser Komplementverbrauch mit den nach Injektion toxischer Präzipitate beobachteten Erscheinungen in kausalem Konnex stünde. Daß dem nicht so ist, lehrten Versuche, in denen die intravenöse Injektion von Eiweißniederschlägen (Globulinen), wie sie durch Dialyse von Pferde- oder Rinderserum erhalten werden können, keinen Komplementschwund hervorrief.

Versuche.

1.

50 ccm Rinderserum werden durch 24ʰ gegen fließendes Wasser dialysiert, der Niederschlag 3mal mit destilliertem Wasser gewaschen, in 50 ccm isotonischer NaCl-Lösung suspendiert und hiervon 2 ccm einem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen intravenös injiziert. Unmittelbar vor und nach der Injektion Blutentnahme. Das Tier zeigt keine Erscheinungen.

Komplementtitration:

Komplementdosis	vor der Injektion	nach der Injektion
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,02	++	+
0,01	θ	θ
0,005	θ	θ

2.

Analog wie 1, nur kam der Niederschlag von dialysiertem Pferdeserum zur Anwendung.

Komplementtiter:

Komplementdosis	vor der Injektion	nach der Injektion
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,02	+++	+++
0,01	++	++
0,005	θ	θ

Komplementschwund begleitet also auch jene Symptome, welche fertige Präzipitate hervorrufen, ist somit bei allen Formen der Anaphylaxie vorhanden und für das Zustandekommen des Phänomens wesentlich.

Daß man mit Präzipitaten allein resp. Mischungen von Antigen und Antiserum beim Meerschweinchen nie besonders stürmische Symptome, vor allem nie Exitus erzielt, geben alle Autoren übereinstimmend zu (Doerr und Russ, Friedberger, Biedl und Kraus). Die Erklärung hierfür haben Doer und Russ bereits gegeben, doch fanden sie, wie es scheint, keine sonderliche Beachtung. Doerr und Russ zeigten, daß die Avidität des Präzipitins zur giftempfindlichen Zelle gering ist, die zum Komplement und Präzipitinogen aber groß. Injiziert man daher das Präzipitin präventiv, so haben die Zellen Zeit, sich damit zu beladen; nach 4—12 Stunden (Doerr und Russ) ist dann die Sache soweit gediehen, daß nachinjiziertes Antigen + Komplement bereits von sessilem Präzipitin rasch gebunden wird, wodurch das Gift in statu nascendi zur empfindlichen Zelle in plötzliche und engste Beziehung gebracht wird. Injiziert man aber das Gemisch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Präzipitinogen + Präzipitin, dann kann der Effekt nur relativ gering sein, weil sich die Intoxikation, die auf der Fixierung des Präzipitins beruht, in Form einer trägeren Reaktion abspielt[1]).

Bei anderen Tieren liegen die Verhältnisse vielleicht anders; beim Kaninchen, wo Gemische relativ kleiner Mengen Immunserum und Antigen nach Friedemann sofortige schwerste Symptome und Exitus erzeugen, ist die Reaktionsfähigkeit oder Avidität der giftempfindlichen Apparate zum Präzipitin vielleicht höher, und wir behalten uns vor, diesen Verhältnissen weiter nachzugehen.

Die Erklärung von Biedl und Kraus, daß der Reaktionskörper im Gemisch mit Antigen zuweilen deshalb nicht wirkt, weil er in Form einer unwirksamen Vorstufe im Immunserum enthalten sein kann und erst durch die Passage oder den Aufenthalt im normalen Tierkörper aktiviert werde, können wir nicht akzeptieren. Denn erstens wirken beim Meerschweinchen auch Gemische von nicht passiertem Immunkörper und Antigen, wie Doerr und Russ bereits angaben, und zweitens sind die von Biedl und Kraus mit passiertem Immunkörper erzielten Symptome nicht stärker als jene, welche man sonst nach Einspritzung von Präzipitaten und Antigen-Antikörpergemischen beobachtet. Schließlich ist nicht einzusehen, warum der Reaktionskörper nicht schon im Immuntier „aktiviert“ werden sollte.

Friedberger und Hartoch beobachteten schon nach intraperitonealer Injektion von immunkörperhaltigem Serum allein bei Meerschweinchen hochgradige Komplementverarmung. Hartoch hat dasselbe bei intravenöser Injektion konstatiert, und führt dies darauf zurück, daß in beiden Fällen ein Antihammelserum zur Anwendung kam. Antihammelserum präzipitiert aber nicht nur Hammeleiweiß, sondern auch Meerschweincheneiweiß, wie die Ueberschichtungsprobe lehrt.

1) Nachtrag zur Korrektur: Daß diese Erklärung nicht für alle Fälle Geltung hat, zeigen eben veröffentlichte Experimente Friedbergers (diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 5), welcher unter besonderen Versuchsbedingungen auch ohne Beteiligung der Körperzellen durch Einwirkung von Komplement auf Präzipitate hochtoxische Körper (Anaphylatoxin) erhielt.

Generated on 2019-01-12 21:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Injiziert man daher ein solches Antiserum intraperitoneal oder intravenös, so entsteht infolge der „Präzipitation in vivo" ein Komplementschwund, bei intravenöser Einspritzung größerer Mengen auch eine der anaphylaktischen ähnliche Reaktion. Hartoch deduziert aus diesem Versuch, daß die Bildung des anaphylaktischen Giftes in der Blutbahn erfolgen kann und schließt die Intervention von Zellen aus. Es ist aber eine Tatsache, daß man den passiv anaphylaktischen Versuch beim Meerschweinchen nicht umdrehen, daß man nicht zuerst Rinderserum und dann Antirinderserum injizieren darf (Doerr und Russ); da vollzieht sich auch eine Reaktion in der Zirkulation, dem Tiere geschieht aber nichts. Wenn man nun sieht, daß ein Meerschweinchen auf Antimeerschweinchenserum (oder Antihammelserum, welches gruppenverwandt ist) mit anaphylaktischen Symptomen antwortet, so geschieht es nicht, weil es Meerschweincheneiweiß im Blute hat, sondern weil ersteres einen organischen Bestandteil empfindlicher Zellen bildet [1]).

Mit anderen Worten: Eine anaphylaktische Reaktion erhält man in folgenden drei Fällen: 1) wenn sessiles Präzipitin an den Zellen durch aktive, 2) durch passive Immunisierung erzeugt wird und 3) wenn man einem Tiere das betreffende präzipitierende oder cytotoxische Serum zuführt. In allen drei Fällen entsteht das Gift in der empfindlichen Zelle; im

1) Nachtrag zur Korrektur: In einer während der Drucklegung dieser Arbeit erschienenen, bereits zitierten Publikation beschäftigt sich Friedberger auch ausführlich mit der primären Giftwirkung präzipitierender Sera für Meerschweinchen. Auch er betrachtet sie als ein anaphylaktisches Phänomen, jedoch in einem ganz anderem Sinne als Hartoch und wir. Da schon ganz schwache Antihammelsera, welche nur 1:100 präzipitieren, auf Meerschweinchen wirken, und dies auch dann, wenn sie vom Meerschweinchen stammen, so hält er eine Gruppenreaktion für ausgeschlossen, die bei der fehlenden natürlichen Verwandtschaft von Hammel und Meerschweinchen ohnedies nicht viel Wahrscheinlichkeit für sich zu haben scheint. Friedberger sieht den Grund, warum nach Injektion präzipitierender Sera anaphylaktische Erscheinungen (Symptome, Komplementschwund) auftreten, darin, daß diese Sera noch Antigenreste enthalten, welche von der letzten immunisierenden Injektion des Immuntieres herrühren. Diese sollen dann im Meerschweinchenkörper mit der Immunsubstanz unter Komplementzutritt reagieren, wobei sich das wirksame Anaphylatoxin bildet (diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 5).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

letzten deshalb, weil das antigene Eiweiß einen Bestandteil des lebenden Protoplasmas ausmacht.

Dagegen bleibt die Anaphylaxie aus, wenn man einem Meerschweinchen zuerst Rinder- und nach etwa 24 Stunden Antirinderserum injiziert, weil sich hier vielleicht eine Reaktion in der Blutbahn abspielt, nicht aber an wichtigen Geweben. So begreift es sich, daß die Injektion hämolytischer Immunsera (Belfanti und Carbone, Kraus und Sternberg) Symptome hervorruft, die Friedemann mit vollstem Rechte als anaphylaktische bezeichnet; alle Arten von cytotoxischen und präziptierenden Antiseris werden das imstande sein.

Dementsprechend fanden wir auch intensiven Komplementschwund, wenn man Meerschweinchen mit frischem, aktivem Rinderserum endovenös einspritzt, das, wie in neuerer Zeit Uhlenhuth und Haendel wieder zeigten, ein heftiges Zellgift für Meerschweinchen enthält. Es ruft bei subkutaner Injektion Nekrosen, bei intraperitonealer, besonders aber intravenöser, akuten Exitus unter dem typischen Bilde des anaphylaktischen Shocks hervor.

Versuche.

1.

Meerschweinchen 391 erhält 0,5 ccm frisches, auf Meerschweinchenerythrocyten hämolytisch wirkendes Rinderserum. 15′ nach der Injektion deutliche Symptome. Entblutet.

Komplementdosis	Komplementtiter: vor der Injektion	Komplementtiter: 16′ nach der Injektion
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	++	+
0,01	++	θ
0,005	θ	θ

2.

Meerschweinchen 393 erhält 1,0 desselben Serums, nach 2′ schwerste Symptome, agonal. Entblutet.

Komplementdosis	Komplementtiter: vor der Injektion	Komplementtiter: 3′ nach der Injektion
0,1	+++	++
0,08	+++	++
0,05	+++	+
0,03	+++	θ
0,02	++	θ
0,01	+	θ
0,005	θ	θ

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Injektion inaktiven Rinderserums, Menschen- und Kaninchenserums hatte keinen Erfolg. Es traten weder Vergiftungserscheinungen noch Komplementverarmungen im Blute der Versuchstiere auf; dies ist auch beim inaktiven Rinderserum natürlich, da es nach Uhlenhuth und Haendel durch Meerschweinchenkomplement nicht reaktivierbar ist.

Wir betrachten also die mit Komplementschwund und mit anaphylaxieähnlichen Symptomen einhergehende Wirkung cytotoxischer Immun- und Normalsera mit Friedemann als ein echt anaphylaktisches Phänomen.

So wie Friedemann auf das Kaninchen, so konnten wir auf das Meerschweinchen passiv Blutkörperchenanaphylaxie übertragen, indem wir mit hämolytischem, hochwertigem Antihammelserum vom Kaninchen intraperitoneal vorbehandelten und nach 24 Stunden Hammelerythrocyten intravenös injizierten. Die Mengen von Blutkörperchen, welche ausreichten, um schwere Symptome hervorzurufen, waren geradezu minimal[1]).

Versuche.

Alle Meerschweinchen intraperitoneal mit aktivem, gegen Hammelerythrocyten gerichtetem Immunhämolysin vom Kaninchen vorbehandelt (1,5 ccm, Serumtiter 0,001 ccm), und nach 24^{h} mit fallenden Mengen einer 50-proz. Hammelerythrocytensuspension intravenös reinjiziert.

M. 810,	1,0	ccm	Erythrocytensusp.	† 5′
„ 811,	0,5	„	„	† 5′
„ 812,	0,1	„	„	† 5′
„ 813,	0,02	„	„	† 5′
„ 814,	0,01	„	„	schwerste Sympt., agonal, erholt sich
„ 815,	0,005	„	„	schwere Symptome, erholt sich
„ 816,	0,002	„	„	verzögerte schwere Sympt., erholt sich

Am nächsten Tage bekamen die überlebenden Tiere 814, 815 und 816 0,04 ccm Hammelerythrocytensuspension, also die doppelt tödliche Menge (siehe No. 813) und reagierten wie folgt:

1) Es waren diese Versuche bereits abgeschlossen, als H. Pfeiffer, später Thomsen die Mitteilung machten, Blutkörperchenanaphylaxie beim Meerschweinchen auszulösen. Sie zogen aber nur die aktive Anaphylaxie in den Bereich ihrer Experimente und bilden unsere hier mitgeteilten Versuche eine Bestätigung und Ergänzung der Ergebnisse jener Autoren für das Gebiet der passiven Blutanaphylaxie beim Meerschweinchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

M. 814,	0,04	Erythrocytensusp. in die 2. Jugularis,	schwerste Symptome
„ 815,	0,04	„ „ „ „	angedeutete Sympt.
„ 816,	0,04	„ „ „ „	schwere Symptome

Es war also eine sichere Schutzwirkung im Sinne der Antianaphylaxie zu konstatieren. Noch deutlicher tritt dies hervor, wenn man hämolytische Sera von niedrigerem Titer oder geringere Dosen hochwertiger zur Erzeugung der passiven Blutkörperchenanaphylaxie verwendet.

Versuch.

Meerschweinchen 413 bekommt 1,0 Hammelhämolysin (Titer 0,01) ip., nach 24ʰ 1,0 gewaschene Hammelerythrocyten intravenös, hat schwerste Symptome, ist agonal, erholt sich erst nach längerer Zeit. Nach weiteren 24ʰ bekommt es 1,0 gewaschene Hammelerythrocyten in die zweite Jugularis und zeigt keine Erscheinungen.

Hier war also die Antianaphylaxie voll ausgeprägt. Es ist dies von Bedeutung, weil Kraus bezweifelt, ob die Erythrocytenüberempfindlichkeit, welche Friedemann bei Kaninchen sah, in das Gebiet der Anaphylaxie gehöre, da die Tiere nach dem Ueberstehen des Shocks nicht antianaphylaktisch waren. Bei der cellulären Anaphylaxie des Meerschweinchens hält es nicht schwer, diese Antianaphylaxie zu erzeugen. Es scheint das Fehlen der Antianaphylaxie demnach eine Besonderheit der Kaninchen zu sein, da sie ja, wie Friedemann hervorhebt, nicht nur bei der Hypersensibilität gegen Erythrocyten, sondern auch gegen heterologes Eiweiß vermißt wird.

Sehr wichtig scheint uns, daß die gleichzeitige Injektion von Hämolysin in die eine und von Erythrocyten in die andere Jugularis beim Meerschweinchen keine Symptome hervorruft, ebensowenig wie die Injektion der Gemische, gleichgültig ob man den Eintritt der Hämolyse abwartet oder nicht.

Versuche.

Meerschweinchen 111 erhält Hammelhämolysin (Titer 0,01) intraperitoneal, und zwar 1,0; nach 24ʰ 0,5 gewaschene Hammelerythrocyten, bekommt sofort schwerste Symptome, liegt lange Zeit agonal.

Meerschweinchen 112 erhält 1,0 des obigen Hämolysins + 0,5 Hammelerythrocyten gleich nach dem Vermengen intravenös und zeigt nichts.

Meerschweinchen 113 erhält 1,0 Hämolysin + 0,5 Erythrocyten nach eingetretener Hämolyse und ist nur leicht benommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man sieht klar, daß sich das Meerschweinchen bei der Anaphylaxie gegen artfremde Erythrocyten genau so verhält, wie bei der gegen artfremdes Eiweiß, und daß es in beiden Richtungen vom Kaninchen prinzipiell differiert. Es wird nach dem Ueberstehen des Shoks oft antianaphylaktisch, das Kaninchen nicht, es reagiert nicht oder schwach auf gemischte oder gleichzeitige, aber getrennte Injektion von Antigen und Antikörper, das Kaninchen ja. —

Wir haben auch nach den Bildungsstätten des anaphylaktischen Reaktionskörpers Umschau gehalten. In erster Linie verfielen wir auf den Gedanken, ob sie nicht in den Leukocyten zu suchen seien. Petersson hat bekanntlich gezeigt, daß die Leukocyten von gegen V. Metschnikoff immunisierten Meerschweinchen normale Tiere gegen die Injektion mit einer sicher letalen Dosis lebender Vibrionen zu schützen vermögen und Salimbeni hat diese Versuche bestätigt. Diese Schutzwirkung kann den Leukocyten eines Immuntieres bereits zukommen, wenn das Serum noch unwirksam ist, kann auf der Höhe der Immunität die gleichen Serumvolumina übertreffen, und schließlich das Schwinden der bakteriolytischen Ambozeptoren aus dem Serum überdauern. Ueber die Bildungsstätten der Reaktionskörper liegen bisher keine Angaben vor; nur fahndete man nach präzipitinproduzierenden Organen, die aber natürlich nach Friedbergers Hypothese und unserer Auffassung von der Identität des Präzipitins mit dem Reaktionskörper für die aufgeworfene Frage in Betracht kämen. Kraus und Levaditi, Kraus und Schiffmann verlegen die Entstehung der Präzipitine in die Blutbahn und halten die Gefäßendothelien für besonders beteiligt, während Cantacuzène leukocytenhaltige Gewebe mit der Präzipitinbildung in Zusammenhang bringt.

Versuche.

Wir immunisierten einige Meerschweinchen durch wiederholte Subkutaninjektionen von 0,1—0,5 ccm Rinderserum. Eines derselben erhielt 10 Tage nach der letzten Injektion von Rinderserum 5 ccm Bouillon ip., das gebildete Exsudat dem nach 6h getöteten Tier entnommen, zentrifugiert, das Leukocytensediment 3mal mit Kochsalzlösung gewachsen und in 2,0 NaCl-Lösung suspendiert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen 21 erhält dieses Leukocytensediment ip., nach 24h 0,2 Rinderserum iv., sofort schwerste Symptome, erholt sich erst nach einiger Zeit.

Meerschweinchen 22 erhält die genannte Waschflüssigkeit der 3. Waschung ip., nach 24h 0,2 Rinderserum iv. θ

Meerschweinchen 23 erhält das Leukocytensediment eines anderen immunisierten Meerschweinchens ip., nach 24h 0,2 Rinderserum iv., θ

Meerschweinchen 24 erhält Leukocyten eines normalen Meerschweinchens ip., nach 24h 0,2 Rinderserum iv. θ

Es war also ein Versuch negativ, einer allerdings positiv. Wir sind momentan nicht in der Lage, diese Experimente weiter fortzusetzen, halten dies aber nicht für aussichtslos.

In der jüngsten Zeit hat Salus die Vermutung ausgesprochen, daß vielleicht die roten Blutkörperchen mit der Bildung der anaphylaktischen Reaktionskörper in Konnex stehen könnten. Er konnte in einem Falle sowohl durch Serum, als durch Blutkörperchen eines aktiv anaphylaktischen Tieres (Meerschweinchen) die Anaphylaxie homolog passiv übertragen; dies und Differenzen, welche in dem Adsorptionsvermögen der Erythrocyten normaler und sensibilisierter Meerschweinchen gegenüber der „toxischen" Substanz des Pferdeserums zu bestehen schienen, veranlaßten ihn, die Hypothese zu formulieren, daß vielleicht die Erythrocyten den anaphylaktischen Immunkörper bilden, den er sich als eine Art Ferment vorstellt. Daß Abderhalden und Deetjen proteolytische Fermente in Pferdeerythrocyten nachweisen konnten, verwertet Salus als Stütze für seine übrigens mit aller Vorsicht geäußerte Vermutung. — Unsere daraufhin gerichteten Versuche ergaben ein negatives Resultat.

Versuche.

10 Meerschweinchen werden sk. mit je 0,1 Rinderserum sensibilisiert. Die Prüfung auf aktive Anaphylaxie nach 14 Tagen durch iv. Reinjektion von 0,2 ccm Rinderserum ergab ein positives Resultat, indem die Tiere akut innerhalb 3 Minuten verendeten. Es wurden die übrigen Meerschweinchen entblutet, das Blut vermengt und die eine Hälfte desselben defibriniert um Blutkörperchen, die zweite koaguliert, um Serum zu gewinnen. Das defibrinierte Blut wurde zentrifugiert, die Erythrocyten 2mal mit der vielfachen Kochsalzmenge gewaschen.

A. Reaktionskörper im Serum der mit Rinderserum vorbehandelten Meerschweinchen.

Meerschweinchen	105	erhält	1,0	des	Serums	ip.,	nach	24h	0,2	Rinders.	iv.	θ
„	106	„	0,5	„	„	„	„	24h	0,2	„	„	θ
„	107	„	0,3	„	„	„	„	24h	0,2	„	„	θ

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. Reaktionskörper in den Erythrocyten der mit Rinderserum vorbehandelten Meerschweinchen.

Meerschw.	110	erhält	1,5	Erythrocytensediment	iv.,	nach	24ʰ	0,2	Rinders. iv.	θ
„	112	„	1,0	„	„	„	24ʰ	0,2	„ „	θ
„	113	„	0,5	„	„	„	24ʰ	0,2	„ „	θ
„	114	„	0,3	„	„	„	24ʰ	0,2	„ „	θ

In diesem Falle gelang es also weder mit dem Serum, noch mit den Erythrocyten hochgradig aktiv anaphylaktischer Meerschweinchen die Anaphylaxie passiv zu übertragen.

Aber auch wenn das Serum reichlich Reaktionskörper enthält, sind die roten Blutkörperchen frei davon. Kaninchen 441 wurde mit Rinderserum immunisiert und 6 Tage nach der letzten Injektion entblutet. Das Blut wurde wieder zur Gewinnung von Erythrocyten verwendet, letztere sorgfältig gewaschen, das letzte Sediment, eine ca. 75-proz. Aufschwemmung in Kochsalzlösung, zur Injektion benützt.

A. Serum von Kaninchen 441.

Präzipitingehalt (in der üblichen Weise durch Zusatz von 0,1 ccm Immunserum zu steigenden Antigenverdünnungen bestimmt. Resultat nach 2ʰ bei 37° C abgelesen).

Verdünnung:	Resultat der Präzipitation:
100	+++
200	+++
400	+++
800	++
1600	+
3200	+
6400	+

Gehalt an Reaktionskörpern:

Meerschw.	8	erhält	1,0	Serum	441	ip.,	nach	24ʰ	0,4	Rinders. iv.	† 5′
„	9	„	0,7	„	441	„	„	24ʰ	0,4	„ „	† 5′
„	10	„	0,5	„	441	„	„	24ʰ	0,4	„ „	† 5′
„	11	„	0,2	„	441	„	„	24ʰ	0,4	„	„ schwerste Sympt.,
„	12	„	0,1	„	441	„	„	24ʰ	0,4	„	„ verzögerte schw.S.
„	13	„	0,08	„	441	„	„	24ʰ	0,4	„	„ leichte Sympt.
„	14	„	0,05	„	441	„	„	24ʰ	0,4	„ „	θ

B. Gehalt der Erythrocyten von Kaninchen 441 zu Reaktionskörpern:

M.	3	erhält	1,0	des Erythrocytensedimentes	ip.,	nach	24ʰ	0,4	Rinders. iv.	θ
„	4	„	0,7	„	„	„	24ʰ	0,4	„ „	θ
„	5	„	0,5	„	„	„	24ʰ	0,4	„ „	θ
„	6	„	0,3	„	„	„	24ʰ	0,4	„ „	θ

Darnach können wir also die Erythrocyten nicht als Bildungsstätten der Reaktionskörper betrachten.

Auffallend war uns, daß es selbst mit dem Serum hochgradig anaphylaktischer Meerschweinchen keineswegs immer,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sondern vielmehr sehr häufig nicht gelingt, passive homologe Anaphylaxie zu erzeugen. Wir konnten diese Erfahrung nicht nur in den angeführten, sondern auch in zahlreichen anderen Versuchen machen. Dagegen glückt die heterologe passive Uebertragung mit präzipitierendem Kaninchenserum auf das Meerschweinchen stets. So wie die Sera aktiv anaphylaktischer Meerschweinchen oft kein Präzipitin enthalten, so sind sie auch frei von Reaktionskörper; auch andere Beobachter haben diese Wahrnehmung gemacht. Beim Meerschweinchen ist die Produktion von sessilem Präzipitin, beim Kaninchen die Abstoßung desselben ins Blut die Regel (Friedberger).

Fassen wir die positiven Ergebnisse unserer Versuche zusammen, so ergibt sich aus den an erster Stelle angeführten Experimenten, daß ein absoluter Parallelismus zwischen dem Gehalt der Antieiweißsera an Präzipitin und anaphylaktischem Immunkörper besteht, vorausgesetzt, daß man ersteres richtig bestimmt. Damit ist der schon von Friedberger aufgestellte und von Doerr und Russ experimentell gestützte Satz von der Identität beider Substanzen gegen alle seither vorgebrachten Einwände neuerdings bewiesen.

In dem gleichen Sinne sprechen auch jene Versuche, welche erkennen lassen, daß die Toxizität der Präzipitate in gleicher Weise von dem gegenseitigen Mengenverhältnis zwischen Antigen und Antikörper abhängig ist, wie die Intensität der Niederschlagsbildung in vitro.

Die Wirkung giftiger Präzipitate war von dem nach Friedberger für die Anaphylaxie charakteristischen Komplementschwund begleitet. Dieses findet sich auch nach Injektion cytotoxischer Sera und die nach letzteren beobachteten Phänomene sind nicht nur äußerlich, sondern im Wesen mit der Anaphylaxie identisch.

Auch beim Meerschweinchen gibt es ebenso, wie beim Kaninchen (Friedemann) eine Anaphylaxie gegen Erythrocyten. Sie ist aktiv und passiv (durch hämolytische Ambozeptoren) hervorzurufen und gleicht in allen Punkten der Serumanaphylaxie der Meerschweinchen.

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Sie ist durch das Kriterium der Antianaphylaxie und dadurch ausgezeichnet, daß Gemische von Immunkörper und antigenen Erythrocyten nicht wirken und unterscheidet sich eben dadurch von den anaphylaktischen Zuständen des Kaninchens, welches nicht antianaphylaktisch wird und auf Antigen-Antikörpergemische reagiert, gleichgültig, ob es sich um Serum- oder Erythrocytenanaphylaxie handelt.

Die Tatsache, daß es uns — allerdings nur in einem Falle — gelang, in einwandsfreier Weise durch gewaschene Leukocyten aktiv sensibilisierter Meerschweinchen die Anaphylaxie zu übertragen, müßte an einem größeren Versuchsmateriale geprüft werden, um daraufhin den Schluß gründen zu können, daß die Leukocyten die Bildung der anaphylaktischen Reaktionskörper besorgen. In diesem Falle wäre auch nach dem Gehalt der weißen Blutzellen an Präzipitin zu fahnden.

Zusammenfassung.

1) Die bisher übliche Methode der Präzipitinauswertung reicht nicht aus, um geringe Mengen von Präzipitin in einem Serum nachzuweisen. Darauf sind wenigstens zum Teil, vielleicht ganz, jene Angaben zurückzuführen, daß es Antieiweißsera gibt, welche zwar passiv anaphylaktisieren, aber kein Präzipitin enthalten.

2) Bei geeigneten Reaktionsverhältnissen konnten wir in jedem Falle zeigen, daß reaktionskörperhaltige Sera auch stets präzipitieren.

3) Die Minimalmengen, welche noch unter Niederschlagsbildung reagieren und im Meerschweinchenkörper noch den anaphylaktischen Zustand erzeugen, sind gleich.

4) Auch der durch Injektion fertiger Präzipitate hervorgerufene anaphylaktische Symptomenkomplex ist von Komplementschwund begleitet.

5) Die Giftigkeit der Präzipitate hängt von dem gegenseitigen Mengenverhältnis von Antigen und Antiserum ab, und zwar in gleicher Weise, wie die Präzipitation in vitro.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6) Auch beim Meerschweinchen gibt es eine Blutkörperchenanaphylaxie, welche so wie die Serumanaphylaxie dieser Tiere zwei Kriterien besitzt, die sie von den analogen Zuständen des Kaninchens unterscheidet. Es existiert bei der Erythrocytenanaphylaxie der Meerschweinchen eine Antianaphylaxie und man muß genau wie beim Serum bei der passiven Uebertragung zuerst das Hämolysin und dann die antigenen Erythrocyten einspritzen.

7) Die nach Injektion cytotoxischer Sera beobachteten Erscheinungen sind nicht nur äußerlich, sondern im Wesen mit der Anaphylaxie identisch. Als Antigen fungieren hier Teile des Protoplasmas der lebenden Zelle.

8) In den Erythrocyten findet keine Bildung oder Anhäufung anaphylaktischer Reaktionskörper statt; für die Leukocyten ist das fraglich.

Literatur.

Friedberger, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 2 und Bd. 3.
Friedberger und Hartoch, Berl. klin. Wochenschr., 1909.
— —, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.
Doerr und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.
— —, ebenda, Bd. 3.
Uhlenhuth und Haendel, ebenda, Bd. 3.
Friedemann, ebenda, Bd. 2.
Fleischmann und Michaelis, Med. Klinik, 1909.
Petersson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42.
Salimbeni, Annales Pasteur, 1909, No. 7.
Kraus und Levaditi, Compt. rend. etc., 1904.
Kraus und Schiffmann, Berl. klin. Wochenschr., 1905.
Kraus, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.
Cantacuzene, Annal. Pasteur, T. 22, No. 1 (1908).
Salus, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 48.
Hartoch, Petersburger med. Wochenschr., 1909.
Kraus und Novotný, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.
Biedl und Kraus, ebenda, Bd. 4.
Thomsen, O., ebenda, Bd. 1.
Pfeiffer, H., Sitzungsberichte der k. Akad. der Wissenschaften in Wien, Math.-naturwissenschaftl. Klasse, Abt. III, Bd. 118.
Pfeiffer, H., und Mita, S., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4.

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus den Biologischen Laboratorien des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin.]

Ueber den Einfluß der Inaktivierung und stärkerer Erhitzung auf die Alkalität des Serums.

Von **Heinrich Davidsohn.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Februar 1910.)

In der Literatur finden sich wiederholt Angaben, daß beim Kochen des Serums eine Aenderung der Reaktion eintritt, insofern, als durch diesen Eingriff die Alkalität abnimmt. Demgegenüber haben Michaelis und Rona[1]) durch Messung von Wasserstoffkonzentrationsketten festgestellt, daß eine Reaktionsänderung nicht zu beobachten ist, wenn beim Erhitzen das Entweichen von Kohlensäure vermieden wird. Bei dem Interesse, das diese Frage speziell auch für die Serologie besitzt, erschien eine Nachprüfung der erwähnten Angaben wünschenswert.

Die Versuchsanordnung bestand darin, daß in einer Reihe von Serumproben vor und nach dem Erwärmen die Alkalität durch Wasserstoffkonzentrationsketten gemessen wurde. Das Serum wurde teils im frischen Zustande verwendet, teils nach ein- oder mehrtägigem Einfrieren; wir hatten nämlich gefunden, daß die Reaktion des Serums auch nach mehrtägiger Aufbewahrung in eingefrorenem Zustande nur so geringe Veränderungen erleidet, daß sie als im Bereich der Fehlerquellen liegend betrachtet werden können.

Das Serum stammte von Kaninchen und Pferden. Um bei der Erhitzung auf höhere Wärmegrade eine stärkere Koagulierung zu vermeiden, wurde das Serum in diesen Fällen auf das 5- oder 7-fache mit $\frac{n}{8}$ Kochsalzlösung verdünnt. Derartig verdünntes Serum wird bei halbstündiger Erwärmung auf 100° milchig, Gerinnung tritt nicht ein.

---

1) L. Michaelis und P. Rona, Biochemische Zeitschrift, 1909, No. 18, p. 317.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man sollte vielleicht a priori annehmen, daß die Alkalität des Serums durch die Verdünnung beeinträchtigt wird. Indessen wird die Reaktion des Serums durch einen ganz gleichen Mechanismus bedingt, wie die bei einer Mischung von verschiedenen Mengen primären und sekundären Natriumphospats oder von Soda und Natriumbikarbonat. In derartigen Gemischen ist die Wasserstoffionenkonzentration nur von dem Verhältnis der sie bestimmenden verschiedenen Komponenten abhängig, nicht aber von ihrer absoluten Konzentration[1]). Daher bleibt auch die Alkalität des Serums beim Verdünnen innerhalb weiter Grenzen gleich.

Die Erwärmung des Serums wurde in der Weise vorgenommen, daß kleine Druckflaschen aus Jenenser Glas fast vollkommen gefüllt und dann für eine halbe Stunde in ein Wasserbad von entsprechender Temperatur gebracht wurden. Wir haben besonderen Wert darauf gelegt, daß die Flasche erst nach völliger Abkühlung geöffnet wurde, da wir hofften, daß die durch die Erwärmung in den überstehenden Luftraum etwa ausgetretene Kohlensäure während der Abkühlung wieder absorbiert werden würde. Wir haben mit diesem Verfahren so günstige Resultate erzielt, daß wir davon absehen konnten, noch auf anderem Wege ein Entweichen von Kohlensäure zu verhindern. Eine Erwärmung unter Oelverschluß würde zweifellos zu ähnlichen Resultaten führen, wenn man nur darauf achtet, daß das verwendete Oel in alkoholischer Lösung absolut neutral reagiert.

Die Konzentrationsketten wurden in der von Michaelis und Rona[2]) näher beschriebenen Form angewendet. Es erwies sich dabei stets wieder als besonders vorteilhaft für die schnelle Erzielung konstanter Werte, die Elektroden in die Flüssigkeit nur eben eintauchen zu lassen. In den letzten Versuchen haben wir eine kleine Modifikation vorgenommen, indem wir statt des Platinblechs als Elektroden nicht zu dünnen Platindraht benutzt haben. Wir hatten dabei den

1) Siehe darüber L. Michaelis, Methoden zur Herstellung bestimmter Wasserstoff-Ionenkonzentration. Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, II, 1337 (1910).

2) L. Michaelis und P. Rona, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vorteil, daß wir sehr schnell, spätestens nach 15 Minuten, konstante Werte abzulesen vermochten. Es mag vielleicht Bedenken erregen, Oberflächen von so geringer Größe als Elektroden anzuwenden, weil man fürchten könnte, daß dies auf Kosten der Genauigkeit geschieht. Die Erfahrung spricht aber dagegen, und auch Smale[1]) hat schon gefunden, daß bereits recht kleine Platin-Wasserstoffelektroden richtige Werte geben.

Die Platindrähte wurden vor der Platinierung geglüht und dann in gewöhnlicher Weise platiniert.

Die Konzentrationskette bestand in unseren Versuchen einerseits aus dem Serum, andererseits aus einem Gemisch, enthaltend $\frac{n}{8}$ Kochsalz und $\frac{n}{100}$ Salzsäure. In dem Verbindungsschlauch befand sich $\frac{n}{8}$ Kochsalzlösung. Das Kontaktpotential zwischen Kochsalzlösung und Gemisch beträgt nach Michaelis und Rona 0,0059 Volt und ist der beobachteten elektromotorischen Kraft der Kette zuzurechnen. Es wurde in allen Versuchen berücksichtigt.

Die Messungen erfolgten bei Zimmertemperatur. Die elektromotorische Kraft wurde mittels der Kompensationsmethode bestimmt. Als Nullinstrument diente ein Kapillarelektrometer.

Die Resultate sind in folgender Tabelle (p. 185) zusammengestellt.

Die Versuche ergeben nach halbstündigem Erhitzen des Serums auf beliebige Temperaturen bis 100°, insbesondere bei der Inaktivierungstemperatur von 55°, Werte von solcher Uebereinstimmung mit denen des nicht erwärmten Serums, wie sie bei derartigen Messungen im Bereich der Fehlerquellen liegen.

Die Reaktion des Serums wird also, wenn das Entweichen von Kohlensäure durch geeignete Maßnahmen verhindert wird, durch vorausgehende Erwärmung bis 100° nicht geändert, also auch nicht beim Inaktivieren, was wir besonders

1) Smale, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 14, 1894, 577.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

im Widerspruch zu Liebermann[1]) erwähnen möchten, der offenbar den durch Entweichen der Kohlensäure bedingten Fehler nicht beachtet hat.

Tabelle.

Versuch No.	Material	Vorausgehende halbstündige Erwärmung auf	Konzentration der H-Ionen [wenn $(H+) \times (OH-) = 0{,}56 \cdot 10^{-14}$]	Konzentration der HO-Ionen [wenn $(H+) \times (OH-) = 0{,}56 \cdot 10^{-14}$]
1	Frisches Kaninchenserum unverdünnt	—	$0{,}13 \cdot 10^{-7}$	$4{,}3 \cdot 10^{-7}$
2	dgl.	55°	$0{,}13 \cdot 10^{-7}$	$4{,}3 \cdot 10^{-7}$
3	Eintägiges Kaninchenser. verdünnt ($^1/_5$)	—	$0{,}20 \cdot 10^{-7}$	$2{,}8 \cdot 10^{-7}$
4	dgl.	55°	$0{,}20 \cdot 10^{-7}$	$2{,}8 \cdot 10^{-7}$
5	Dreitägiges Kaninchenser. verdünnt ($^1/_5$)	—	$0{,}20 \cdot 10^{-7}$	$2{,}8 \cdot 10^{-7}$
6	dgl.	65°	$0{,}27 \cdot 10^{-7}$	$2{,}1 \cdot 10^{-7}$
7	Eintägiges Kaninchenser. verdünnt ($^1/_5$)	—	$0{,}074 \cdot 10^{-7}$	$7{,}6 \cdot 10^{-7}$
8	dgl.	75°	$0{,}12 \cdot 10^{-7}$	$4{,}7 \cdot 10^{-7}$
9	Zweitägiges Kaninchenser. verdünnt ($^1/_7$)	—	$0{,}32 \cdot 10^{-7}$	$1{,}8 \cdot 10^{-7}$
10	dgl.	100°	$0{,}30 \cdot 10^{-7}$	$1{,}9 \cdot 10^{-7}$
11	Eintägiges Pferdeserum verdünnt ($^1/_7$)	—	$0{,}095 \cdot 10^{-7}$	$5{,}9 \cdot 10^{-7}$
12	dgl.	100°	$0{,}082 \cdot 10^{-7}$	$6{,}8 \cdot 10^{-7}$

Zusammenfassung.

Die Alkalität des Serums wird durch Wärmeinaktivierung nicht verändert.

1) Liebermann, Biochem. Zeitschr., Bd. 14.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie (Vorstand: Hofrat R. Paltauf) und der III. medizinischen Klinik (Vorstand: Geh.-Rat v. Strümpell) in Wien.]

Untersuchungen über die antiproteolytisch wirkende Substanz im Harn und Serum.

Von **Julius Bauer,**
Assistenten am Neurologischen Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Februar 1910.)

Das Problem „Antitrypsin", sowohl das seiner Natur wie auch das seines Vorkommens hat an Interesse nichts eingebüßt trotz der langen Zeit, seit welcher schon fast wöchentlich neue Arbeiten über dieses Thema veröffentlicht werden. Bringen ja gerade die neuesten Untersuchungen auf diesem Gebiete einander widersprechende Resultate, sowohl was das Wesen und die Natur der antitryptisch resp. antiproteolytisch wirkenden Substanz wie auch was deren Vorkommen im Organismus anlangt.

Während noch in letzter Zeit Kurt Meyer mit einer Reihe anderer Autoren an der echten Antifermentnatur des Antitrypsins festhält und die Schlüsse O. Schwarz's nicht gelten lassen will, der auf Grund seiner Untersuchungen das Antitrypsin für eine Lipoideiweißverbindung hält, findet Döblin, das Antitrypsin sei weder ein Antiferment noch ein Lipoid, sondern irgend eine andere kolloidale, nicht ätherlösliche Substanz. Während bisher alle Autoren das Antitrypsin als thermolabil angesehen hatten, konnte Döblin seine Thermostabilität feststellen. Glässner hatte das Antitrypsin nur in der Globulinfraktion gefunden, Landsteiner, Opie und Barker, E. Müller und S. Hedin fanden es ausschließlich in der Albuminfraktion, Döblin fast nur in der Albuminfraktion, findet jedoch geringe Mengen Antitrypsin auch in der Eu- und Pseudoglobulinfraktion.

Während man auf Grund zahlreicher Arbeiten die Antitrypsinvermehrung im Serum unter anderem auch als charakteristisch für Kachexie angesehen hatte, betont Poggenpohl

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und auch Klug, daß die Antitrypsinvermehrung nicht für die Kachexie charakteristisch sei; die Antitrypsinvermehrung setze als Defensivvorgang einen in gewissem Grade noch funktionstüchtigen Organismus voraus. Unmittelbar vor dem Tode findet sich dementsprechend häufig bei Carcinom keine Antitrypsinvermehrung im Serum. Müller und Kolaczek, Reich und ich haben Antitrypsin im normalen Harn niemals gefunden, Döblin findet es in jedem normalen Harn. Reich und ich konnten die antitryptische Wirkung des Harns durch Aetherextraktion aufheben, Döblin findet sie vor und nach der Aetherextraktion gleich stark. Die hier angeführten Widersprüche aufzuklären ist das Ziel der folgenden Untersuchungen.

Pick und Przibram haben gezeigt, Schwarz hat es bestätigt, daß die antitryptische Wirkung des Serums nach Aetherausschüttelung verschwindet; Reich und ich fanden das gleiche Verhalten bei dem Antitrypsin des Harns. Auf Grund dieser Tatsache jedoch das Antitrypsin für eine lipoide Substanz anzusehen, sei man, wie Meyer in seiner letzten Arbeit sagt, nicht berechtigt, da es durchaus nicht erwiesen ist, daß die antitryptisch wirkende Substanz sich im Aether gelöst hat; man könne ebensowohl annehmen, daß die Ausschüttelung mit Aether das Antitrypsin zerstört. Es könnte auch die Anwesenheit von Aetherspuren im extrahierten Harn die antitryptische Wirkung desselben hindern.

Das Letztere ist sicherlich nicht der Fall, da ein mit Aether ausgeschüttelter Harn, auch wenn man längere Zeit hindurch mit der Saugpumpe Luft durchleitet und ihn so ätherfrei gemacht hat, nicht mehr antitryptisch wirkt. Daß nicht das Schütteln selbst die antitryptische Wirksamkeit beeinträchtigt, wie dies für eine Reihe von biologischen Vorgängen gerade in letzter Zeit erwiesen wurde — Schüttelinaktivierung von Lab (Schmidt-Nielsen), Schüttelinaktivierung des Komplementes (Jacoby und Schultze, Zeissler) — erweist der Ausgang des Benzinausschüttelungsversuches. Durch Ausschütteln mit Benzin verliert der Harn nichts von seiner antitryptischen Wirksamkeit. Entweder verschwindet also durch die Aetherextraktion des Harns seine antitryptische Wirkung deshalb, weil das Antitrypsin als eine lipoide Sub-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stanz in den Aether übergeht, oder weil das Antitrypsin durch den Aether zerstört wird. Die letztere Möglichkeit wird ausgeschaltet, wenn es gelingt, im Aetherextrakt das Antitrypsin nachzuweisen. In der Tat gelingt es auch mit dem Aetherextrakt eine antitryptische Wirkung zu erzielen, wenn diese auch quantitativ geringer ist als die des ursprünglichen Harns. Dasselbe gelang Döblin mit dem Aetherextrakt des Serums. Ich ging hierbei folgendermaßen vor. Nachdem derselbe Harn 3mal mit Aether extrahiert worden war, wurden die drei Aetherextrakte zusammen im Vakuum getrocknet, nochmals in Aether aufgenommen, wieder getrocknet und schließlich in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und untersucht [1]). Daß die antitryptische Wirkung des Extraktes nicht quantitativ der des Harns gleichkommt, läßt sich nach Schwarz in der Weise erklären, daß die antitryptisch wirkende Substanz eine Lipoideiweißverbindung ist und daß Lipoide allein erst bei weit höherer Konzentration so stark antitryptisch wirken wie ihre Verbindung mit Eiweiß. Offenbar finden sich im Aetherextrakt lediglich die von ihrer Eiweißverbindung losgesprengten Lipoide.

Für diese Auffassung sprechen überdies folgende Ergebnisse. Durch Aussalzen der Globuline des Harns mit Ammonsulfat in halbgesättigter Lösung bei alkalischer Reaktion, Entfernen des Niederschlags durch Zentrifugieren und Filtrieren büßt der Harn nur wenig oder gar nichts von seiner antitryptischen Wirkung ein, durch Ausfällen auch der Albumine des Harns mit Ammonsulfat in gesättigter Lösung, Abzentrifugieren des Niederschlages und Filtrieren verliert er entweder den größten Teil oder seinen ganzen Antitrypsingehalt. Das wechselnde Verhalten des Harns in dieser Beziehung ist gerade recht charakteristisch. Ob man das überschüssige Ammonsulfat durch Dialysieren wegschafft oder nicht, ist für die antitryptische Wirksamkeit irrelevant, wie dies bereits Landsteiner erwähnt. Ammonsulfat selbst in konzentrierter Lösung wirkt nicht antitryptisch. Wie eben gesagt, behält also häufig auch ein gänzlich enteiweißter Harn (alle Eiweißproben negativ) eine geringe antitryptische Wirksamkeit

1) Die Methode (Gross-Fuld) ist in der Arbeit von Reich und mir genau beschrieben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bei. Das entspricht auch den Befunden von Reich und mir, wo zwei eiweißfreie Harne (Typhus abdominalis) den antitryptischen Index 50 hatten. Aehnliche Verhältnisse bezüglich der Ammonsulfataussalzbarkeit wie ich für das Harnantitrypsin, konnte Döblin für das Serumantitrypsin erheben. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß das Antitrypsin nicht ein Eiweißkörper ist, sondern durch das Ammonsulfat zusammen mit den Eiweißkörpern niedergerissen wird (Przibram), in wechselnder Menge je nach den verschiedenen physikalisch-chemischen Verhältnissen, unter denen die Ammonsulfataussalzung vorgenommen wird. Damit würden auch die Differenzen in den Angaben der Autoren über die Zugehörigkeit des Antitrypsins zur Albumin- resp. Globulinfraktion verständlich.

Im gleichen Sinne wie die Ammonsulfataussalzung spricht die Enteiweißung antitryptisch wirkender Harne durch Alkohol. Werden in einem antitryptisch wirkenden Harn oder in einem Serum die Eiweißkörper durch Alkohol ausgefällt, so pflegen in wechselndem Maße beide Fraktionen, d. h. die alkoholunlöslichen Eiweißkörper sowie das alkohollösliche eiweißfreie Filtrat antitryptisch zu wirken, beide natürlich schwächer als die ursprüngliche Flüssigkeit[1]). Hierbei befolgte ich nach Porges folgende Methode: Harn oder Serum wurden mit einer 4—5-fachen Menge Alkohol versetzt, der Niederschlag so schnell als möglich abzentrifugiert und in der gleichen Menge Kochsalzlösung aufgenommen als ursprünglich Harn resp. Serum vorhanden gewesen war. Das Filtrat der Alkoholfällung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand ebenfalls mit Kochsalzlösung aufgenommen. Die Kochsalzaufschwemmung der alkohollöslichen Bestandteile gab nie eine der gebräuchlichen Eiweißreaktionen; nur eine sehr geringe Biuretreaktion gab die Aufschwemmung der alkohollöslichen Bestandteile des Serums, die Reaktion fehlte ganz in der Aufschwemmung der alkohollöslichen Bestandteile des Harns. Auch das Ergebnis des Alkoholfällungsversuches ist also durch

1) Kawashima berichtet in einer ganz kürzlich erschienenen Arbeit, das Antitrypsin und Antilab sei in absolutem Aethylalkohol vollkommen unlöslich. Gelegentlich beobachtete er aber doch eine Abnahme der antitryptischen Wirksamkeit nach Behandlung des getrockneten Serums mit Alkohol. In Methylalkohol gehe nur ein kleiner Teil des Antitrypsins über, vorzugsweise sei dieses in der methylalkoholunlöslichen Fraktion vorhanden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Annahme, es handle sich bei dem Antitrypsin um eine Lipoideiweißverbindung, gut verständlich.

Nun wollen wir uns eingehender mit den Untersuchungen Döblins befassen, da gerade sie für die Auffassung des Antitrypsins von Bedeutung sind. Döblin findet Antitrypsin in jedem normalen Harn und eine Vermehrung des Harnantitrypsins in gewissen pathologischen Fällen, wie Carcinom, Phthise, Typhus, Pneumonie und besonders in gallenfarbstoffhaltigen Harnen. Einen strengeren Parallelismus zwischen Antitrypsingehalt des Serums und des Harns konnte er nicht nachweisen. Zahlenmäßig hemmt durchschnittlich der Urin ca. 1000mal weniger als das Serum. Die antitryptische Wirkung des Harns ist in hohem Maße gegen Erhitzen resistent. Die antitryptische Wirkung von 4 Urinen war nach Aetherextraktion die gleiche wie vorher. Nach Döblin handelt es sich bei dem Antitrypsin des Urins um kolloidale Körper, die hitzebeständig sind und sich mit Aether nicht extrahieren lassen. Solche Kolloide sind im normalen Urin erst vor kurzer Zeit durch Rosenbach und Lichtwitz nachgewiesen worden[1]).

Der scheinbare Gegensatz zu den Angaben Müllers und Kolaczeks, Müllers, Bauer und Reichs klärt sich auf, sobald wir die Methodik Döblins näher ins Auge fassen. Döblin untersuchte nur eiweißfreie Harne, welche, wie er durch Vorversuche feststellte, kein proteolytisches Ferment enthielten. Er variiert bei der von ihm verwendeten Kaseinmethode nicht wie Reich und ich die Trypsinmengen bei konstantem minimalem Harngehalt (1 Tropfen), sondern variiert bei konstantem Trypsingehalt die Harnmengen (0,12—2,0 ccm). Döblin dialysiert den zu untersuchenden Harn und macht ihn alkalisch. Während die Verdauungszeit in den Versuchen von Reich und mir etwa 20 Minuten betrug, läßt Döblin seine Proben 6 Stunden im Brutschrank verdauen. Es ist aus alledem selbstverständlich, daß die Methodik Döblins eine weit genauere ist, daß er bei einem Harn, der kein proteolytisches Ferment enthält, Antitrypsin in so geringen Quantitäten nachzuweisen imstande ist, wie es Müller und

1) Das von Abelous und Bardier beschriebene „Urohypotensin" wird von den Autoren ebenfalls als Kolloid aufgefaßt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kolaczek vermittels der Plattenmethode, sowie Reich und mir sicher entgehen mußte (eine 1000mal geringere Hemmungskraft als die des Serums!). Wir fanden in solchen Fällen, wo kein proteolytisches Ferment vorhanden war, den antitryptischen Index gleich 0.

Es ist wahrscheinlich, daß das Harnantitrypsin Döblins verschieden ist von dem durch Müller und Kolaczek und Reich und mir in pathologischen Harnen nachgewiesenen Antitrypsin. Döblins Antitrypsin ist ätherunlöslich, unseres ist ätherlöslich. Döblin zählt sein Antitrypsin zu den Kolloiden des normalen Urins, wie sie von Lichtwitz und Rosenbach durch Bestimmung der Schutzwirkung vermittels der Goldzahl nachgewiesen worden sind. Diese Schutzkolloide haben jedoch nach Lichtwitz und Rosenbach die Eigenschaft, durch Benzin extrahierbar zu sein. Der Benzinextrakt zeigt dann Schutzkolloidwirkung, der rückständige Harn hat sie verloren. Ein Harn, der nach der von mir angewendeten Methode untersucht, antitryptisch wirkt, behält seine antitryptische Wirksamkeit bei, wenn er mit Benzin ausgeschüttelt wird. Das unter pathologischen Verhältnissen im Harn auftretende Antitrypsin geht also nicht in den Benzinextrakt über, gehört somit nicht zu den von Lichtwitz und Rosenbach beschriebenen Kolloiden des normalen Harns. „Die Herkunft der antitryptischen Substanz des Urins aus dem Serum ist möglich, doch nicht erweislich. Sie gleicht der des Serums im Verhalten gegen Dialyse und Hitze“ (Döblin). Das „Antitrypsin“ im Harn Gesunder und im Serum ist schon wegen des Verhaltens gegenüber Aether nicht identisch, während das im Harn bei krankhaften Zuständen in größeren Mengen auftretende Antitrypsin mit dem des Serums identisch zu sein scheint. Hat doch Döblin selbst einerseits keine Abnahme seines Harnantitrypsins durch die Aetherextraktion konstatieren, andererseits eine Schwächung der antitryptischen Wirkung, andere Autoren ein Verschwinden derselben, beim Serum nachweisen können.

Nach Döblin ist das Antitrypsin des Harns und Serums hitzebeständig. Frühere Autoren hatten es thermolabil gefunden. Längeres Erhitzen soll das Antitrypsin vernichten, ein Hauptargument für den Fermentcharakter des Antitrypsins,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wiewohl auch dieses Argument durch die Ausführungen von O. Schwarz hinfällig geworden ist. Ich untersuchte wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Serum, das ich vorher mehrere Male über dem Bunsenbrenner aufkochen ließ, auf seine antitryptische Wirkung und fand diese ungefähr gleich der antitryptischen Wirkung desselben Serums vor dem Kochen. Ich muß daher die Angabe Döblins über die Thermostabilität des Antitrypsins bestätigen.

Fassen wir die bisherigen Ergebnisse kurz zusammen, so ergibt sich demnach, daß das Antitrypsin keine einheitliche Substanz darstellt. Neben einem möglicherweise vorkommenden spezifischen Antiferment des Trypsins resp. anderer proteolytischer Fermente können verschiedene kolloidale Substanzen wahrscheinlich vermöge ihrer adsorbierenden Wirkung eine antitryptische resp. antiproteolytische Wirksamkeit entfalten. Die Kolloide, welche von Döblin als Träger der geringen antitryptischen Wirksamkeit normaler Harne angesprochen werden, sind wahrscheinlich nicht identisch mit dem „Antitrypsin“ des Serums und nicht identisch mit der von Müller und Kolaczek und Reich und mir in pathologischen Harnen gefundenen antitryptisch wirkenden Substanz. Diese scheint hingegen identisch zu sein mit dem im Serum vorhandenen „Antitrypsin“. Das Verhalten desselben, namentlich seine Thermostabilität, läßt die Annahme, daß es ein spezifisches Antiferment darstellt, unberechtigt erscheinen, stimmt hingegen mit der Ansicht von O. Schwarz gut überein, der die antitryptische Wirkung auf eine Lipoideiweißverbindung zurückführt. Jene Artspezifizität, welche nach Glässner dem Antitrypsin zukommt, kann sehr wohl auch auf Lipoideiweißverbindungen zu beziehen sein, wie dies bereits Schwarz hervorgehoben hat. Kommt ja den Lipoiden allein schon eine recht bedeutende Rolle selbst für Immunvorgänge zu, da es Much gelungen ist, das Lipoid Nastin mit Erfolg als Antigen zu verwenden.

Zur Entscheidung der Frage, ob das unter pathologischen Verhältnissen auftretende Harnantitrypsin aus dem Serum stammt und von der kranken Niere durchgelassen oder ob es in der Niere selbst gebildet wird, habe ich unter Leitung des Herrn Professor Biedl, dem ich auch hier meinen verbindlichsten Dank ausspreche, Versuche unternommen, über die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ich im folgenden berichten will, weil sie, wenn auch nicht das gewünschte Resultat, so doch einiges Bemerkenswerte zeitigten.

Der erste Weg, den ich zur Entscheidung der Frage einschlug, beruhte auf folgendem Prinzip. Wenn in einem Organismus, dessen Niere für „Antitrypsin“ durchlässig geworden ist, der Antitrypsingehalt des Serums variiert, so ist anzunehmen, daß auch die im Harn ausgeschiedene Antitrypsinmenge im gleichen Sinne variiert. Bleibt jedoch bei variablem Antitrypsingehalt des Blutserums die Antitrypsinmenge im Harn konstant, so spricht das für den renalen Ursprung des Harnantitrypsins. Die Vorbedingung für die Versuchsanordnung ist hierbei die Möglichkeit, einerseits experimentell Antitrypsinausscheidung im Harn zu erzeugen, andererseits den Antitrypsingehalt des Serums in sehr kurzer Zeit um nicht geringe Werte zu variieren.

Um eine Antitrypsinausscheidung im Harn experimentell zu erzeugen, versuchte ich auf Grund der Feststellung von Reich und mir, daß die höchsten Antitrypsinwerte im menschlichen Harn sich bei akuten Nephritiden vorfinden, durch Einwirkung von Nierengiften experimentell Nephritis hervorzurufen. Vorausschicken muß ich nur, daß sich bei normalen Kaninchen und Hunden meist gar kein Antitrypsin nachweisen, ja oft sogar eine Beschleunigung der tryptischen Verdauung durch den Harn konstatieren läßt; nur bei wenigen Tieren fand sich im normalen Zustand eine geringe Antitrypsinmenge im Harn. Injiziert man jedoch Kaninchen subkutan Chrom, Sublimat oder Cantharidin (andere Nierengifte wurden, da es für die Lösung des vorliegenden Problems irrelevant gewesen wäre, nicht erprobt), so läßt sich schon nach wenigen Stunden zugleich mit der Eiweißausscheidung auch eine antitryptische Wirkung des Harns resp. eine starke Steigerung derselben konstatieren, die namentlich bei der Chrom-Nephritis recht beträchtliche Werte zu erreichen pflegt. Ein Parallelismus zwischen Eiweißmenge und Antitrypsingehalt des Harnes scheint auch bei der experimentellen Nephritis nicht zu bestehen. Besonders auffällig war der relativ geringe antitryptische Index trotz großen Eiweißgehaltes bei der Cantharidin-Nephritis, wiewohl diese zu der vaskulären Form der Nephritis gehört (Schlayer und Hedinger, Schlayer und Takayasu), also ein direkter Uebergang von Blutserum in den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Harn gerade hier am ehesten stattfinden dürfte. Die Nieren wurden nach dem Tode des Tieres histologisch untersucht und stets konnte eine Nephritis konstatiert werden. Da der Verlauf der Antitrypsinausscheidung während einer experimentellen Nephritis einiges Interesse beansprucht, möge die folgende Tabelle beigefügt sein. Der zu untersuchende Harn wurde den Tieren mittels Katheters entnommen und frisch untersucht. Die Vermeidung von Verletzungen beim Katheterisieren ist wegen der Blutbeimengung zum Harn streng zu beobachten. Jeder untersuchte Harn, der nach der Injektion des Nierengiftes entnommen wurde, enthielt Eiweiß. Die zahlenmäßige Bestimmung des Albumengehaltes mußte meist wegen der zu geringen Harnmenge unterbleiben.

Tabelle I.

Kaninchen	Tag	Antitrypsingehalt des		
		Serums	Harns	
2	20. XI.	60	0	1 ccm K chromic. (2,0 : 40,0)
	22. XI.		100	subkutan injiziert
	23. XI.	50	34	1 ccm K chromic.
	24. XI.		0	dgl.
	25. XI.			tot
3	23. XI.	40	17	1 ccm K chromic. subk. injiz.
	24. XI.		34	Harn enthält $2^1/_2$ ‰ Albumen nach Esbach. 1 ccm K chromic.
	25. XI.		80	
	26. XI.	40	60	
	27. XI.		132	
	28. XI.			tot
5	29. XI.	34	0	
	30. XI.			1 ccm K chromic.
	1. XII.		34	dgl.
	3. XII.			tot
10	11. XII. $11^h 30'$	50	—17	1 ccm K chromic.
	$4^h 45'$		120	
	13. XII.			tot
4	27. XI. 11^h	25	20	1 ccm Sublimat injiziert (0,5 : 50,0)
	4^h		75	
	29. XI.		50	
	30. XI. $4^h 15'$		0	1,6 ccm Sublimat
	1. XII. $4^h 15'$		40	2,0 ccm Sublimat
	2. XII.	0	25	
	3. XII.			tot
8	7. XII. $10^h 25'$		0	0,3 ccm Cantharidin subkutan injiz. (1,0 : 100,0 Essigäther)
	$4^h 45'$		17	massenhaft Albumen im Harn
	8. XII.			tot

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Durch Injektion von Phloridzin ließ sich keine Antitrypsinausscheidung im Harn erzielen. Dieses steht im Einklang mit dem negativen Befund von Marcus bei Diabetikern.

Den Antitrypsingehalt des Serums in kurzer Zeit variieren zu können, glaubte ich mit Rücksicht auf die Angaben von Bergmann und Bambergs in der Hand zu haben, die ja schon 24 Stunden nach einer Trypsininjektion bei Hunden eine recht beträchtliche Steigerung des Antitrypsingehaltes des Serums fanden. Diese Befunde zu bestätigen, gelang mir nicht. Weder an Hunden noch an Kaninchen konnte ich in kurzer Zeit den Antitrypsingehalt des Serums durch Trypsininjektionen steigern. Als Beispiel seien angeführt:

Tabelle II.

	Tag	Antitrypsingehalt des		
		Serums	Harns	
Kaninchen	6. XI.	40	0	subkutane Injektion einer 5-proz. Trypsinlösung (8ccm)
	10. XI.	50	—33	
	11. XI.	20	—25	
	12. XI.			subkutan 20 ccm einer 4-proz. Trypsinlösung
	13. XI.	40	0	
	16. XI.	50		großer Absceß in der Unterbauchgegend
	20. XI.	60		
Hund	16. XI.	50	0	subkutan 20 ccm einer 4-proz. Trypsinlösung
	17. XI.	50	0	
	18. XI.	20		

An Kaninchen hatte sich ja bereits Landsteiner vergebens bemüht, eine Vermehrung des Antitrypsins im Serum durch Immunisierung zu erzielen.

Aber nicht nur der Weg der aktiven Immunisierung, sondern auch der der passiven — wenn ich mich dieser eigentlich unrichtigen Ausdrucksweise bedienen darf — versagte. Ich konnte durch Injektion von Leukofermantin (Merck), einem auch von Marcus zur Erhöhung des Antitrypsingehaltes im Blutserum von Diabetikern verwendeten Präparate, das eine 10mal größere Menge proteolytisches Ferment enthält, als das normale Blutserum, keine Antitrypsinvermehrung

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

im Serum von Kaninchen erzielen. Mit dem Wegfall der zweiten Vorbedingung für meine Versuchsanordnung, d. i. mit der Unmöglichkeit, den Antitrypsingehalt des Serums in relativ kurzer Zeit variieren zu lassen, mußte ich diesen Weg, eine Entscheidung über die Herkunft des Harnantitrypsins zu bringen, verlassen.

Ebensowenig erfolgreich war ein anderer Weg. Ich exstirpierte nephritisch gemachten, „Antitrypsin" in Harn ausscheidenden Tieren die Nieren oder unterband ihnen die Ureteren und fand nun in den folgenden Tagen eine Vermehrung des „Antitrypsins" im Blutserum [1]). Die Annahme jedoch, die man auf Grund dieses Befundes machen könnte, daß die sonst durch die Niere ausgeschiedene Antitrypsinmenge nun mehr retiniert wird und eine Steigerung des Antitrypsingehaltes im Serum bewirkt, erwies sich als unrichtig deswegen, weil auch normale, nicht nephritische Tiere, die kein Antitrypsin im Harn ausscheiden, nach Nierenexstirpation oder Ureterenunterbindung eine Vermehrung des Serumantitrypsins aufweisen und weil sogar einseitige Nierenexstirpation bei gesunden Tieren zu einer Antitrypsinvermehrung im Serum führt. Offenbar ist es also die allgemeine Schädigung des Organismus, wie sie durch die so eingreifende Nierenexstirpation resp. Ureterenunterbindung bewirkt wird, die zu einem vermehrten Zellzerfall und zu einer Antitrypsinsteigerung im Serum führt. Ist ja oft gerade der unmittelbar vor dem Tode erfolgende starke Anstieg des antitrypsinschen Index auffallend, den ich übrigens öfters auch an aus anderen Gründen moribunden Tieren konstatieren konnte [2]). Bei der Untersuchung des Serums wurde nicht wie beim Harn ein Tropfen zugesetzt, sondern 0,01 ccm Serum, d. i. 0,1 ccm des mit physiologischer Kochsalzlösung 10-fach verdünnten Serums.

---

1) Die Narkose allein bewirkt keine nachweisbare Antitrypsinsteigerung im Serum, wie man eventuell nach den Untersuchungen Reichers, der während langdauernder Narkose Lipoidausschwemmung ins Serum konstatierte, vermuten könnte.

2) Im Gegensatz zu den Befunden Poggenpohls und Klugs an Carcinomkranken vor dem Tode.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Kaninchen	Tag	Antitrypsingehalt des Serums	Antitrypsingehalt des Harns	
9	11. XII.	34	—17	
	13. XII. 10ʰ 45′			0,8 ccm K chrom.
	14. XII. 2ʰ 20′	40	50	beide Nieren exstirpiert
	15. XII. 10ʰ 30′	75		
	16. XII. 10ʰ 30′	175		ist sehr dekrepid. Serum muß aus der Halsvene entnommen werden
	abends			tot
11	13. XII.		0	1,0 ccm K chrom.
	14. XII. 1ʰ 45′	50	175	beide Nieren exstirpiert
	15. XII. 10ʰ 40′	60		
	16. XII. 10ʰ 35′	70		
	17. XII. 10ʰ 30′	80		
	18. XII.			tot
14	5. I. 4ʰ 30′	33	—20	0,9 ccm K chrom.
	7. I. 9ʰ	40	50	beide Nieren exstirpiert. Harn enthält 4¾ ‰ Albumen
	8. I. 8ʰ 50′	60		
	9. I. 10ʰ 45′	125		ist sehr dekrepid. Serum aus Halsvene entnommen; getötet
17	5. I. 4ʰ 40′		0	0,85 ccm K chrom.
	7. I. 9ʰ 30′	20	50	beide Nieren exstirpiert
	8. I. 9ʰ 10′	20		
	9. I. 11ʰ 30′	100		ist sehr dekrepid, Serum aus der Halsvene; getötet
19	10. I. 4ʰ 45′	40	0	beide Nieren exstirpiert
	11. I. 4ʰ 30′	50		
	12. I. 4ʰ 15′	75		
	13. I. 8ʰ 30′	80		vormittag eingegangen
21	12. I. 4ʰ 30′	75	0	beide Nieren exstirpiert
	13. I. 4ʰ 30′	120		
	14. I. 4ʰ 30′	140		
	15. I. 10ʰ 30′	200		das Tier ist in der Nacht vor dem 16. I. eingegangen
23	20. I. 9ʰ	68		linke Niere exstirpiert
	22. I. 10ʰ 30′	150		
24	20. I. 9ʰ 5′	25		linke Niere exstirpiert
	22. I. 10ʰ 35′	80		

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle IV.

Kaninchen	Tag	Antitrypsingehalt des Serums	Antitrypsingehalt des Harns	
6	3. XII.	75	—25	
	4. XII.			1 ccm K chrom. subkutan
	6. XII. 4ʰ 45′	80	100	der linke Ureter wird unterbunden
	7. XII. 10ʰ 25′	80		
	4ʰ 45′	100		
	8. XII.			tot
12	16. XII. 10ʰ 30′		—20	0,9 ccm K chrom.
	17. XII. 11ʰ	60	85	beide Ureteren unterbunden
	18. XII. 9ʰ 30′	50		
	19. XII.			tot
13	19. XII. 10ʰ			0,8 ccm K chrom.
	20. XII. 10ʰ 30′	50		beide Ureteren unterbunden. Das Tier konnte nicht katheterisiert werden
	21. XII. 10ʰ 30′	110		
	22. XII. 10ʰ 30′	150		
	23. XII.			tot
15	5. I. 4ʰ 35′		0	0,9 ccm K. chrom.
	7. I. 9ʰ 45′	10	50	beide Ureteren unterbunden
	8. I. 8ʰ 45′	30		
	9. I. 10ʰ 30′	130		das Serum wird von dem vor etwa 1 Stunde eingegangenen Tier entnommen.
16	5. I. 4ʰ 37′		0	0,85 ccm K chrom.
	7. I. 10ʰ 10′	50	80	beide Ureteren unterbunden
	8. I. 9ʰ	40		
	9. I. 11ʰ	100		
	10. I.			tot
22	14. I. 4ʰ 45′	68	0	beide Ureteren unterbunden
	16. I. 10ʰ 45′	125		
	17. I.			tot

Wiewohl es mir also nicht gelungen ist eine Entscheidung zu bringen in der Frage nach der Herkunft des Harnantitrypsins, möchte ich doch auf folgendes hinweisen. Wird bei einer Nephritis das „Antitrypsin“ des Serums von der kranken Niere in den Harn durchgelassen, so sollte man eher eine Verminderung des Serumantitrypsins erwarten als eine Steigerung, wie sie wenigstens bisweilen bei Nephritis konstatiert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurde (Poggenpohl, Jacob); keinesfalls ist aber eine Verminderung des Serumantitrypsins bei Nephritiden gefunden worden. Andererseits würden wir bezüglich der Durchlässigkeit der kranken Niere für „Antitrypsin" eine Analogie in der Durchlässigkeit für Typhusagglutinine finden. Nach Marbé ist die Agglutininurie viel stärker, wenn gleichzeitig Albuminurie besteht.

Zusammenfassung.

1) „Antitrypsin" ist keine einheitliche Substanz, sondern seine antitryptische resp. antiproteolytische Wirkung kann auf verschiedene kolloidale Substanzen zurückzuführen sein.

2) Das „Antitrypsin" des normalen Harns (Döblin) scheint nicht identisch zu sein mit dem bei gewissen Krankheiten im Harn auftretenden „Antitrypsin" (Müller-Kolaczek, Bauer-Reich), während dieses letztere wahrscheinlich mit dem Serumantitrypsin identisch ist.

3) Die Annahme, daß das „Antitrypsin" ein echtes Antiferment ist, ist schon wegen seiner Thermostabilität hinfällig.

4) Die Annahme von O. Schwarz, daß die antitryptische Wirkung des Serums auf Lipoideiweißverbindungen zurückzuführen ist, erscheint sehr wahrscheinlich.

5) Durch experimentelle Erzeugung von Nephritis gelingt es eine Antitrypsinausscheidung resp. -vermehrung im Harn zu erzielen.

6) Eine Vermehrung des Serumantitrypsins in kurzer Zeit konnte durch Injektionen von Trypsin sowie von Leukofermantin nicht erzielt werden.

7) Nach Ureterenunterbindung oder nach Nierenexstirpation tritt sowohl bei nephritischen wie auch bei normalen Tieren Antitrypsinvermehrung im Serum auf. Dieselbe ist nicht als Folge einer Retention von „Antitrypsin" aufzufassen, da eine Antitrypsinvermehrung im Serum auch nach Exstirpation einer Niere auftritt und auch bei drei aus anderen Gründen moribunden Kaninchen konstatiert werden konnte.

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Literatur.

Abelous et Bardier, Journal de Physiol. et de Pathol. générale, 1909, p. 777.
Bauer und Reich, Med. Klinik, 1909, No. 46; 1910, No. 2.
v. Bergmann und Bamberg, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 30.
Döblin, A., Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 4, Heft 1/2.
Glässner, K., Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol., Bd. 4.
Hedin, S., Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 60, p. 84.
Jacob, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 27.
Jakoby und Schultze, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 48.
Klug, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 50.
Kawashima, Biochem. Zeitschr., Bd. 23, 1909, Heft 3 und 4.
Landsteiner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 27, 1900, p. 357.
Lichtwitz und Rosenbach, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 61, p. 112.
Marbé, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 67, 1909, No. 37.
Marcus, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therapie, Bd. 6, Heft 3.
Meyer, K., Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 42.
Müller, E., Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 91 u. 92; Verhandl. d. Kongr. f. innere Med., 1908, p. 680.
Müller und Kolaczek, Münch. med.nWochenschr., 1907, No. 8.
Much, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 36.
Opie und Barker, zit. nach Döblin.
Pick und Przibram, Handbuch d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi, Bd. 2, p. 84.
Poggenpohl, Archives de Médecine expérim. et d'Anatomie pathol., T. 21. No. 6, 1909.
Porges, Handbuch d. Technik u. Method. d. Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi, Bd. 2, p. 1177.
Reicher, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 65, Heft 3 u. 4.
Rosenbach, O., Untersuchungen über Kolloide im normalen menschlichen Urin. Inaug.-Diss., 1909.
Schlayer und Hedinger, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 90.
Schlayer und Takayasu, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 43.
Schmidt-Nielsen, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 60, p. 426.
Schwarz, O., Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 33.
—, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 48.
Zeissler, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 52.

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus der Kgl. Universitätsklinik für Hautkrankheiten
(Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Neisser), Serodiagnostische Abteilung
(Privatdozent Dr. Bruck).]

Ueber die Bewertung der unsicheren und „paradoxen“ Reaktionen bei der serodiagnostischen Untersuchung der Syphilis.

Von **Margarete Stern.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Februar 1910.)

In der letzten Zeit ist von einzelnen Autoren auf Sera aufmerksam gemacht worden, die sowohl bei Untersuchung nach der Originalmethode von Wassermann-Neisser-Bruck als bei Benutzung der Modifikationen kein gleichbleibendes Resultat geben, sondern die verschieden reagieren, wenn sie mehrere Tage nacheinander geprüft werden. Aus einem positiven Befund kann ein negativer, aus einem negativen ein positiver werden, ganz gleich, ob die Untersuchungen nur einen oder mehrere Tage auseinander liegen. Von Meirowsky (1) wurden solche Sera unter dem Namen „paradoxe Sera“ beschrieben. Trotzdem in keinem seiner 4 angeführten Fälle anamnestisch Syphilis ganz auszuschließen war und sich einer der Fälle später als Syphilis herausgestellt hat, glaubt M. nicht berechtigt zu sein, unter diesen Umständen stets das positive Resultat als das ausschlaggebende anzusehen.

Auch ich habe seit längerer Zeit ähnliche Beobachtungen an einer Anzahl von Seren gemacht; ich wollte aber bei der sowohl theoretischen als besonders praktischen Bedeutung dieser Frage erst über ein größeres, von den verschiedensten Gesichtspunkten aus zu bewertendes Material verfügen, ehe ich es veröffentlichte.

Um zunächst festzustellen, wie häufig eine Umkehrung der Reaktion desselben Serums innerhalb von 2—3 Tagen eintritt, habe ich 100 Sera, ohne jede Auswahl, wie wir sie grade zur Untersuchung bekamen, an 3 aufeinanderfolgenden Tagen geprüft, und zwar sowohl nach der Originalmethode als nach der von mir angegebenen Modifikation (2). Die erste

Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Untersuchung der Sera erfolgte ca. 2 Stunden nach der Blutentnahme, die zweite und dritte nach 24, bezw. nach 48 Stunden. Als Antigen diente durchweg alkoholischer Extrakt aus syphilitischen Menschenlebern.

Tabelle I.

3malige Untersuchung von 100 Seren ohne jede Auswahl nach Wassermann und meiner Modifikation.

(K = Kuppe; C bedeutet, daß die betreffenden Seren nicht genügendes Komplement zur Untersuchung enthielten.)

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
1	8826	Lues I	24. V.	+	+
			25. V.	+	+
			26. V.	+	—
2	8828	Lues I	24. V.	+	0
			25. V.	+	+
			26. V.	—	+
3	8829	Lupus vulg.	24. V.	0	0
			25. V.	0	0
			26. V.	0	0
4	8846	Normal	25. V.	0	0
			26. V.	0	0
			27. V.	0	—
5	8847	Lues III	25. V.	+	+
			26. V.	+	+
			27. V.	+	+
6	8848	Lues II	25. V.	+	+
			26. V.	+	+
			27. V.	+	—
7	8872	Lues II	26. V.	0	0
			27. V.	0	0
			28. V.	0	0
8	8873	Normal	26. V.	0	0
			27. V.	0	0
			28. V.	0	0
9	8874	Ekzem	26. V.	0	0
			27. V.	0	0
			28. V.	0	0
10	8875	Ulcus molle	26. V.	0	0
			27. V.	0	0
			28. V.	0	0
11	8902	Lues ?	26. V.	—	+
			27. V.	+	+
			28. V.	+	+
			29. V.	+	—
12	8934	Lues ?	27. V.	0	0
			28. V.	0	0
			29. V.	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
13	8935	Lues I	27. V.	0	0
			28. V.	0	0
			29. V.	0	0
14	8936	Lues ?	27. V.	0	0
			28. V.	0	0
			29. V.	0	0
15	8999	Ekzem	2. VI.	0	+
			3. VI.	0	0
			4. VI.	—	0
16	9000	Ekzem	2. VI.	0	+
			3. VI.	0	0
			4. VI.	0	0
17	9001	Diabetes u. Nephritis	2. VI.	+	+
			3. VI.	+	0
			4. VI.	+	0
18	9002	Ekzem	2. VI.	0	0
			3. VI.	0	0
			4. VI.	0	0
19	9026	Lues I	3. VI.	+	+
			4. VI.	+	+
			5. VI.	+	+
20	9027	Gonorrhöe	3. VI.	0	0
			4. VI.	0	0
			5. VI.	0	0
21	9043	Lues II	5. VI.	+	+
			7. VI.	+	+
			8. VI.	+	+
22	9070	Lues I und II	5. VI.	+	+
			7. VI.	C.	+
			8. VI.	—	+
23	9096	Atyp. Exanthem	7. VI.	0	0
			8. VI.	0	0
			9. VI.	—	0
24	9097	Ulcus molle	7. VI.	0	0
			8. VI.	0	0
			9. VI.	0	0
25	9098	Lues II	7. VI.	+	+
			8. VI.	+	+
			9. VI.	+	+
26	9133	Lues III	8. VI.	+	+
			9. VI.	+	+
			10. VI.	+	+
27	9134	Psoriasis	8. VI.	0	0
			9. VI.	0	0
			10. VI.	0	0
28	9135	Lues I	8. VI.	+	+
			9. VI.	+	+
			10. VI.	+	+

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
29	9136	Lues ?	8. VI.	0	0
			9. VI.	0	0
			10. VI.	0	0
30	9163	Lues ?	9. VI.	0	0
			10. VI.	0	0
			11. VI.	0	0
31	9187	Favus	10. VI.	0	0
			11. VI.	0	0
			12. VI.	0	0
32	9166	Lues I	9. VI.	+	+
			10. VI.	+	+
			11. VI.	+	+
33	9185	Lues I	9. VI.	0	0
			10. VI.	0	0
			11. VI.	0	0
34	9186	Lues II	9. VI.	+	+
			10. VI.	+	+
			11. VI.	+	0
			12. VI.	+	+
35	9188	Ekzem	10. VI.	0	0
			11. VI.	0	0
			12. VI.	0	0
36	9189	Normal	10. VI.	0	0
			11. VI.	0	0
			12. VI.	0	0
37	9219	Ulcus molle ?	11. VI.	0	0
			12. VI.	0	0
			14. VI.	—	0
38	9298	Acne	15. VI.	0	0
			16. VI.	0	0
			17. VI.	0	0
39	9301	Gonorrhöe	15. VI.	0	0
			16. VI.	0	0
			17. VI.	0	0
40	9302	Lues ?	15. VI.	+	0
			16. VI.	+	0
			17. VI.	+	0
41	9389	Lues ?	19. VI.	0	0
			21. VI.	0	0
			22. VI.	0	0
42	9402	Lues	19. VI.	0	0
			21. VI.	0	0
			22. VI.	0	0
43	9405	Lues I und II	19. VI.	+	+
			21. VI.	+	+
			22. VI.	+	+
44	9406	Ulcus molle	19. VI.	0	0
			21. VI.	0	0
			22. VI.	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
45	9456	Lues latens	22. VI.	+	0
			23. VI.	+	0
			24. VI.	+	+
46	9457	Lues II	22. VI.	+	+
			23. VI.	+	+
			24. VI.	+	+
47	9458	Ulcus molle ?	22. VI.	0	0
			23. VI.	0	0
			24. VI.	0	0
48	9459	Ulcus molle ?	22. VI.	0	0
			23. VI.	0	0
			24. VI.	0	0
49	9460	Lues latens	22. VI.	+	+
			23. VI.	+	+
			24. VI.	+	+
50	9461	Lues II	22. VI.	+	+
			23. VI.	+	+
			24. VI.	+	+
51	9462	Ulcus molle	22. VI.	0	0
			23. VI.	0	0
			24. VI.	0	0
52	9463	Normal	22. VI.	0	0
			23. VI.	0	0
			24. VI.	0	0
53	9465	Ulcus molle ?	22. VI.	0	0
			23. VI.	0	0
			24. VI.	0	0
54	9488	Ulcus molle ?	24. VI.	0	0
			25. VI.	0	0
			26. VI.	0	0
55	9489	Lues III	24. VI.	+	+
			25. VI.	+	+
			26. VI.	+	+
56	9504	Lues II	24. VI.	+	+
			25. VI.	+	+
			26. VI.	+	+
57	9505	Gonorrhöe	24. VI.	0	0
			25. VI.	0	0
			26. VI.	0	0
58	9516	Lues latens	25. VI.	0	0
			26. VI.	0	0
			27. VI.	0	0
59	9517	Lues II	25. VI.	+	+
			26. VI.	+	+
			27. VI.	+	+
60	9536	Gonorrhöe	26. VI.	0	0
			28. VI.	0	0
			29. VI.	0	0

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
61	9561	Ulcus molle	28. VI.	0	0
			29. VI.	0	0
			30. VI.	0	0
62	9562	Gonorrhöe	28. VI.	0	0
			29. VI.	0	0
			30. VI.	0	0
63	9602	Gonorrhöe	30. VI.	0	0
			1. VII.	0	0
			2. VII.	0	0
64	9603	Lues I u. II	30. VI.	+	+
			1. VII.	+	+
			2. VII.	+	+
65	9605	Lues latens	1. VII.	+	+
			2. VII.	+	+
			3. VII.	+	+
66	9606	Lues maligna	1. VII.	+	+
			2. VII.	+	+
			3. VII.	+	+
67	9607	Ulcus molle	1. VII.	0	0
			2. VII.	0	0
			3. VII.	0	0
68	9634	Urethritis postgonorrh.	2. VII.	0	0
			3. VII.	C	0
			4. VII.	—	0
69	9659	Lues	2. VII.	+	+
			3. VII.	+	+
			4. VII.	+	+
70	9660	Ulcus molle	3. VII.	0	0
			4. VII.	0	0
			5. VII.	0	0
71	9681	Ulcus molle	3. VII.	0	0
			4. VII.	0	0
			5. VII.	0	0
72	9685	Gonorrhöe	5. VII.	0	0
			6. VII.	0	0
			7. VII.	0	0
73	9886	Lues latens	5. VII.	0	0
			6. VII.	0	0
			7. VII.	0	0
74	9711	Lues latens	5. VII.	+	0
			6. VII.	+	0
			7. VII.	0	+
75	9712	Ulcus molle	6. VII.	0	0
			7. VII.	0	0
			8. VII.	C	0
76	9713	Condyloma acumin.	6. VII.	0	0
			7. VII.	0	0
			8. VII.	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
77	9714	Gonorrhöe	6. VII.	0	0
			7. VII.	0	0
			8. VII.	0	0
78	9763	Lues II	8. VII.	+	+
			9. VII.	+	+
			10. VII.	+	+
79	9806	Lues I u. II	9. VII.	+	+
			10. VII.	+	+
			12. VII.	+	+
80	9807	Lues I u. II	10. VII.	+	+
			12. VII.	+	+
			13. VII.	+	+
81	9831	Lues I	12. VII.	0	0
			13. VII.	0	0
			14. VII.	0	0
82	9832	Condyloma acumin.	12. VII.	0	0
			13. VII.	0	0
			14. VII.	0	0
83	9858	Lues latens	13. VII.	0	0
			14. VII.	0	0
			15. VII.	0	0
84	9859	Lues latens	13. VI1.	0	0
			14. VII.	0	0
			15. VII.	0	0
85	9870	Lues	13. VII.	+	+
			14. VII.	+	+
			15. VII.	+	+
86	9889	Lues II	14. VII.	+	+
			15. VII.	+	+
			16. VII.	+	+
87	9912	Ekzem	15. VII.	0	0
			16. VII.	0	0
			17. VII.	0	0
88	9913	Gonorrhöe	15. VII.	0	0
			16. VII.	0	0
			17. VII.	C	0
89	9914	Lues I u. II	15. VII.	+	+
			16. VI1.	+	+
			17. VII.	+	+
90	9975	Lues	17. VII.	C	+
			19. VII.	—	+
			20. VII.	—	+
91	9976	Ulcus molle	17. VII.	0	0
			19. VII.	0	0
			20. VII.	0	0
92	9977	Gonorrhöe	19. VII.	0	0
			20. VII.	0	0
			21. VII.	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung
93	10 004	Lues I u. II	19. VII.	+	+
			20. VII.	+	+
			21. VII.	+	+
94	10 006	Lues I	20. VII.	+	+
			21. VII.	+	+
			22. VII.	+	+
95	10 007	Lues ?	20. VII.	0	0
			21. VII.	0	0
			22. VII.	0	0
96	10 024	Lues II	21. VII.	+	+
			22. VII.	+	+
			23. VII.	+	0
97	10 025	Lues I u. II	21. VII.	+	0
			22. VII.	+	+
			23. VII.	+	0
98	10 026	Lues II	21. VII.	·	+
			22. VII.	+	+
			23. VII.	+	+
99	10 046	Lues I	22. VII.	(K) 0	+
			23. VII.	+	+
			24. VII.	+	+
100	10 047	Ulcus molle	22. VII.	0	0
			23. VII.	0	0
			24. VII.	0	0

Wie wir aus Tabelle I ersehen, blieb die Reaktion in 92 Proz. der Fälle unverändert, in 8 Fällen trat ein Umschlag ein, und zwar bei No. 2, 15, 16, 17, 34, 45, 74, 96.

In No. 2, 34, 45, 96 handelt es sich um Syphilis I und II oder latens.

Dagegen sind No. 15 und 16 Ekzemfälle, bei denen keinerlei Anhaltspunkte für Syphilis vorhanden waren. In beiden Fällen blieb das Resultat aktiv negativ, während die erste Untersuchung nach Wassermann positiv ausfiel, bei der zweiten und dritten Untersuchung aber auch negativ wurde. Die augenscheinlich unspezifische Hemmung erfolgte bei beiden Seren an demselben Tage und mit Zusatz desselben Meerschweinchenkomplements, so daß die Ursache des positiven Ausfalls vielleicht in dem Komplement zu suchen ist, eine Möglichkeit, die ich später ausführlich erörtern werde.

No. 17 ist das Serum eines Schwerkranken, der an Nephritis und Diabetes litt. Dasselbe war bei der aktiven

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungsart an allen Tagen positiv, während es nach Wassermann nur das erste Mal, und zwar an demselben Tage, wie die beiden oben genannten Ekzemsera, positiv reagierte, so daß man für diese unspezifische Reaktion im inaktiven Versuch ebenso das angewendete Meerschweinchenkomplement, das aber sonst im Versuch tadellos funktionierte, heranziehen kann.

Die Eventualität, daß das Serum von Patienten mit schweren konsumierenden Krankheiten nach meiner Modifikation, da sie feiner ist als die ursprüngliche Methode, gelegentlich einmal positiv reagiert, habe ich in einer früheren Arbeit hervorgehoben. Aber auch inaktiviertes Serum von schweren Tuberkulosen, Carcinomen etc. gibt nach den Versuchen der von Noordenschen Klinik u. a. unter Umständen gewisse Komplementbindungen, die bei aktiven Seren dann eventuell in völlige Hemmungen umschlagen können. Eine vollständige positive Reaktion tritt aber auch im inaktiven Serum nicht selten während der Agone bei Nichtsyphilitikern ein (Plaut, Hanken) und unter Leichenseren weisen viele, sowohl inaktiv wie aktiv ganz regellos positive Reaktionen auf (Bruck, 16). Diese Befunde sind für die innere Medizin von großer Wichtigkeit, während sie für die Dermatologie weniger Bedeutung haben.

Ich hatte in meiner ersten Arbeit über meine Modifikation, obgleich sie sich auf eine Prüfung von 300 Seren stützte, nichts davon erwähnen können, daß es Fälle gibt, in denen Sera, aktiv untersucht, negativ reagieren, während sie nach Wassermann positiv sind; denn merkwürdigerweise ist mir unter den ersten 300 Seren nicht ein einziger Fall vorgekommen, der sich so verhielt. Ebenso haben auch Schlimpert (15) und Vosswinkel in ihrer Nachprüfung meiner Methode an 165 Seren ausdrücklich betont, daß sie kein Serum gefunden haben, das aktiv negativ und inaktiv positiv gewesen wäre. Seitdem ist mir dieser Fall mehrfach vorgekommen. Da es am nächstliegendsten war, die Ursache der negativen Reaktion in einem Ueberschuß von Menschenkomplement zu suchen, habe ich solche Sera am nächsten Tage noch einmal in halber Dosis, d. h. mit 0,1 Serum untersucht und dann in vielen Fällen ein positives Resultat erhalten. Indessen kommt man mit dieser Erklärung nicht vollkommen aus, da immer noch eine Anzahl Sera auch in halber Konzentration verwandt, negativ bleiben, so daß hierbei noch andere Faktoren mitwirken müssen. Nun ist mir im Laufe des letzten Jahres, in dem systematisch jedes Serum, soweit es die Quantität gestattete, in unserer Klinik sowohl aktiv wie inaktiv untersucht wurde, aufgefallen, daß es Zeit-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abschnitte gibt, in denen ich mit der aktiven Untersuchung bessere Resultate erhalte, als mit der inaktiven und wieder Wochen, in denen dieselbe nicht nur nicht feinere Ausschläge gibt, als die Orginalmethode, sondern hinter derselben weit zurückbleiben kann.

Wenn auch die Verschiedenheit der Resistenzfähigkeit der Hammelblutkörperchen gegenüber aktivem Serum einerseits und inaktivem Serum + Meerschweinchenkomplement andererseits gelegentlich eine Rolle spielen kann, wie ich das später auseinandersetzen werde, so ist das zwar ein Moment, das für den täglichen Versuch von Wichtigkeit werden kann, aber bei dem häufigen Wechsel der Blutkörperchen nicht eine wochenlang anhaltende Verschlechterung meiner Modifikation verursachen kann. — Da auch der Ambozeptor bei seiner starken Verdünnung dafür kaum in Betracht kommt, bleibt nur der syphilitische Leberextrakt übrig, der ja in gleicher Weise wochenlang, d. h. so lange er reicht, angewandt wird.

Es scheint nun, daß man in der Tat mit gewissen Extrakten mit inaktivem Serum bessere Resultate erhält als mit aktivem, während andere Extrakte wieder mit aktivem Serum stärker reagieren. Die syphilitischen Leberextrakte, die für unsere täglichen Versuche gebraucht werden, sind sämtlich mit über 100 Seren im inaktiven Versuch im Vergleich mit einem älteren bewährten Extrakt ausprobiert worden, und es werden nur solche verwendet, die sich als gleichwertig mit dem Probeextrakt herausgestellt haben. Dieselben werden dann auch für den aktiven Versuch — ohne erneute Prüfung aktiven Seren gegenüber — in $^2/_5$ der für den inaktiven Versuch verwandten Dosis gebraucht. Es wäre nun möglich, daß nicht jeder Extrakt, der für den inaktiven Versuch in der austitrierten Dosis geeignet ist, **auch in der von mir zuerst angegebenen Konzentration** für die aktive Untersuchung geeignet ist.

Zu ähnlichen Vermutungen ist Kleinschmidt (13) gelangt, der meine Modifikation mit aktivem Serum im Vergleich mit der Originalmethode an 200 Seren geprüft hat. Er hat dabei drei verschiedene alkoholische Extrakte verwendet. Während er mit den ersten beiden Extrakten sehr ungünstige Resultate mit aktivem Serum erhielt, fand er mit dem letzten Extrakt, mit dem er 40 Sera untersuchte, daß jedes Serum, daß inaktiv positiv war, auch aktiv totale Hemmung zeigte und daß einige Male inaktive Sera negativ, aktive aber positiv reagierten. Kleinschmidt vermutet daher gewisse Unterschiede in den Extrakten. Er betont, daß alle drei alkoholischen Extrakte aus luetischen Lebern nach der Wassermannschen Methode dauernd sichere Resultate gaben. Das ist aber meines Erachtens selbstverständlich, da die Extrakte vermutlich — ebenso wie dies bisher bei uns gehandhabt wurde — nur für den inaktiven Versuch ausprobiert worden waren. Nun könnte man daran denken, falls man keinen Extrakt zur Verfügung hat, der für beide Methoden gleich günstig ist, mit zwei verschiedenen Extrakten zu arbeiten, von denen jeder nur für eine Methode wirksam ist. Damit würde man aber die Vergleichung der Resultate der beiden Methoden sehr erschweren und gerade diese Paralleluntersuchungen sind, wie ich später erörtern werde, wegen der Aufdeckung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mancher Fehlerquellen von nicht zu unterschätzender Bedeutung. Nach meinen bisherigen Erfahrungen ist es auch nicht nötig, in solchen Fällen inaktiv und aktiv mit verschiedenen Extrakten zu arbeiten, sondern man erreicht dasselbe, wenn man im aktiven Versuch mit der Extraktdose etwas heraufgeht, also statt mit zwei Fünftel der im inaktiven Versuch verwandten Extraktdose mit der Hälfte oder drei Fünftel arbeitet. Die Höhe der Dosis muß sich nach dem jeweiligen Extrakt richten und mit derselben Sorgfalt bestimmt und überwacht werden wie die Extraktkonzentration im inaktiven Versuch.

Ich möchte annehmen, daß die Autoren, die bei der Nachprüfung meiner Modifikation die Verschärfung durch dieselbe bestätigt haben (Meirowsky, Schlimpert und Vosswinkel, Reinhard u. a.), so wie ich in der ersten Zeit, nur mit Extrakten gearbeitet haben, die zufälligerweise für beide Methoden günstig lagen, während die anderen Forscher, die entweder eine Verfeinerung durch die Modifikation nicht konstatieren konnten, oder dieselbe sogar der Wassermannschen Reaktion unterlegen fanden, mit Extrakten untersuchten, die — wenigstens in der von mir zuerst angegebenen Konzentration — den Ausfall der Reaktion zu Ungunsten meiner Untersuchungsmethode beeinflußten.

Unter den Autoren, die dieselbe nachgeprüft haben, möchte ich kurz noch auf die ausführliche Arbeit von Jacobaeus und Louis Backmann (9) eingehen. Diese Autoren haben vergleichende Untersuchungen der Originalmethode, der Bauerschen und meiner Modifikation an 102 Seren nicht syphilitischer Personen und 45—55 Seren Syphilitischer angestellt und dabei für jedes Serum den Titer des Komplements für meine Modifikation und den Titer des Ambozeptors für die Bauersche Modifikation bestimmt. Während sie betreffs des luetischen Materials bestätigen, „daß die Sternsche Reaktion in gewissen Fällen eine Verfeinerung der Wassermannschen Reaktion darstellt", kommen sie bei den Nicht-Syphilitikern zu dem überraschenden Resultat, daß sie hier in 5,9 Proz. der Fälle positiv ausfällt, eine Tatsache, die die Reaktion als unbrauchbar darstellen würde. Aber ein Blick auf die übersichtlich angeordneten Fälle, denen stets die Komplementangabe des betreffenden Serums beigefügt ist, zeigt, daß die Autoren sich zwar, wie sie ausdrücklich hervorheben, an meine Technik (mit Ausnahme der Anwendung des Ambozeptors), aber nicht an meine Wertbemessung gehalten haben, nach der ich eine Reaktion für positiv oder negativ ansehe. Nach meiner Forderung ist nur dann ein Serum für positiv anzusehen, wenn die Kontrolle vollkommen gelöst ist, während die genannten Autoren auch jedes Serum für positiv rechnen, das sowohl im Versuchsröhrchen, als in der Kontrolle, infolge gänzlichen Komplementmangels völlig gehemmt ist. Infolge davon gelangen Jacobaeus und Louis Backmann auch bei ihrer Zusammenstellung der relativen Durchschnittswerte des Komplementgehalts bei positiven und negativen Seren zu unrichtigen Schlüssen, da sie das Komplement im positiven Serum viel zu niedrig einschätzen. Würden sich die Autoren nach meiner Forderung der Beurteilung der Resultate, bezw. der Kontrollen gerichtet haben, so hätten in ihrer Tabelle zu Gruppe V, p. 94 die beiden ersten Zahlen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kolonnen (die „keine Hämolyse“ oder „halbe Hämolyse in der Kontrolle“ bedeuten) fortfallen müssen, wodurch sich der Durchschnittswert der positiven Sera um ein Bedeutendes erhöht hätte. Solche Sera sind selbstverständlich nie von mir als positiv bezeichnet worden und fallen, wie ich dies in meiner Arbeit betont habe, als gänzlich ungeeignet für die Untersuchung im aktiven Zustand fort; sie werden nur nach der Originalmethode untersucht. Selbst bei Seren, deren Kontrolle halb gelöst ist, bei vollständiger Hemmung des Versuchsröhrchens, wird die Entscheidung offen gelassen und bei einer ganz leichten Hemmung der Hämolyse der Kontrolle (inkomplett) wird das Serum nur dann als positiv gerechnet, wenn der gleichzeitig angesetzte inaktive Versuch positiv ausfällt, im anderen Falle wird ein solches Serum eventuell noch einmal untersucht oder als „zweifelhaft“ bezeichnet.

Unter den 6 Seren von Nicht-Syphilitikern, die nach Jacobaeus und Louis Backmann mit der aktiven Methode positiv reagierten, sind 3, die wegen vollkommener Komplementabwesenheit nicht zu untersuchen waren, von den Autoren aber statt dessen als positiv gerechnet worden sind. Von den 3 übrigen Seren sind 2 Scharlachsera. Es ist ja von den verschiedensten Forschern (Much und Eichelberg, Bruck und Cohn, Zeisler, Halberstädter, Hecht u. a.) gezeigt worden, daß solche Sera auch mit der Wassermannschen Methode öfters Komplementbindung geben, und es ist daher nicht zu verwundern, daß, da meine Modifikation schärfere Ausschläge gibt, auch die Hemmungen bei Scharlach häufiger auftreten. Da die Reaktion ja aber kurze Zeit nach überstandener Krankheit ganz verschwindet, ist dieses Phänomen praktisch von untergeordneter Bedeutung.

Der 6. Fall, der, aktiv untersucht, positiv reagierte, ist ein Gesunder, bei dem es sich also möglicherweise um eine unspezifische Hemmung gehandelt hat. Diese letzten 3 Fälle hatten genügend Komplement zur Lösung der Kontrolle, indessen haben sich die Autoren nicht an meine Angaben bezüglich des hämolytischen Ambozeptors gehalten, der 3—4mal so konzentriert verwendet werden soll, wie für den inaktiven Versuch, während sie ihn nur „fast doppelt so stark“ genommen haben. Es wäre möglich, daß bei einem größeren Ueberschuß von Ambozeptor in dem einen oder anderen Falle die Reaktion nicht positiv ausgefallen wäre. Wenn wir nun die 3 Fälle ohne Komplement und die beiden Scharlachfälle abziehen, so bleibt ein Fall übrig, d. h. die Reaktion ist in noch nicht ganz 1 Proz. bei Nicht-Syphilitikern als positiv zu bezeichnen. — —

Mit einigen Worten möchte ich noch die Punkte besprechen, die Hoehne (17) gegen die verschiedenen Modifikationen mit aktivem Serum und speziell gegen die meinige ins Feld geführt hat. Es sind folgende:

1) „Die zu geringe klinische Spezifität der Reaktion bei Verwendung aktiver Sera, da Sachs (8) und Altmann unzweifelhaft nachgewiesen haben, daß aktive Sera in einem nicht geringen Prozentsatz positiv reagieren, trotzdem Syphilis mit allergrößter Wahrscheinlichkeit auszuschließen ist“.

Nun haben Sachs und Altmann, wie ich dies in meiner letzten Arbeit ausdrücklich betont habe, allerdings gefunden, daß aktive Sera nicht mehr spezifisch wirkten, wenn sie unter denselben Bedingungen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wie inaktive mit Meerschweinchenkomplement untersucht wurden. Bei meiner Modifikation fällt aber nicht nur das Meerschweinchenkomplement fort, sondern die Extrakt- und Hammelblutdose ist stark reduziert, dagegen die Ambozeptorkonzentration sehr erhöht, wodurch die Spezifität wieder hergestellt werden kann. Das ist auch die Ansicht von Sachs (8) und Altmann, da sie in ihrer neuesten Publikation schreiben: „Natürlich ist es möglich, daß man bei geeigneter quantitativer Anordnung durch Verwendung aktiven Serums die Reaktion verfeinern kann, ohne daß sie an klinischer Spezifität leidet.“

2) „Der individuell schwankende Gehalt des menschlichen Blutes an Komplement.“

Nach meinen Untersuchungen und Erfahrungen bietet die vollkommene Hämolyse der Kontrolle (Serum allein) bei totaler Hemmung des Versuchsröhrchens, eine genügende Gewähr dafür, daß eine eventuelle Hemmung der Hämolyse nicht etwa durch eine unzureichende Komplementmenge verursacht worden ist. Sera, welche eine unvollkommene Hemmung im Versuchsröhrchen (große Kuppe) bei völliger Lösung der Kontrolle zeigen, werden von mir noch einmal untersucht, oder eventuell als „zweifelhaft“ bewertet. Hoehne ist der Ansicht, daß die Originalmethode bei Verwendung des austitrierten Meerschweinchenserums mit einer Unbekannten, meine Modifikation, die das nicht austitrierte Menschenserum benutzt, mit zwei Unbekannten arbeitet. Nach meiner Ansicht arbeiten beide Methoden mit denselben Unbekannten: auch das täglich neue Meerschweinchenkomplement muß als „Unbekannte“ angesehen werden, da durch den Vorversuch nur sein Verhalten im hämolytischen System allein, nicht aber bei Hinzufügung der anderen, die Hämolyse beeinflussenden Faktoren geprüft werden kann.

3) „Die Unmöglichkeit, die einzelnen Faktoren in ihrem Verhalten gegenüber dem hämolytischen System durch die unbedingt nötigen Kontrollen zu beobachten.“ Hoehne meint offenbar die Kontrollen: Extrakt allein und dessen Beziehungen zum hämolytischen System. Wie ich auf p. 226 auseinandergesetzt habe, glauben wir auf diese Kontrollen und den Vorversuch für das aktive Serum verzichten zu können, da wir festgestellt haben, daß diese Vernachlässigung auf den spezifischen Ausfall des Versuchs keinen Einfluß hat. Die hämolytische Eigenschaft eines Extrakts kann unter Umständen aufgehoben werden, da sie von den individuellen Löslichkeitsverhältnissen der jeweiligen Hammelblutkörperchen abhängt (ob auch der umgekehrte Fall eintreten kann, daß ein nicht hämolytischer Extrakt zu Zeiten hämolytisch werden kann, bin ich aus Mangel an Erfahrung nicht imstande zu beurteilen, da alle brauchbaren Extrakte, mit denen ich im letzten Jahr gearbeitet habe, hämolytisch waren). Man ist infolge dieser Feststellung häufig nicht in der Lage zu entscheiden, ob die Hämolyse durch einen Extrakt eine antikomplementäre Funktion desselben verdeckt. Wir ziehen es deshalb vor, unsere Extrakte nur durch die Praxis zu prüfen, indem wir sie mit mehr als 100 Seren in Parallelversuchen mit einem bewährten Extrakt vergleichen, ehe wir sie für unsere Untersuchungen in der Klinik verwerten. Die tägliche Kontrolle des Extrakts auf etwaige antikomplementäre Eigenschaften (für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den inaktiven Versuch) haben wir beibehalten, da auch ein an und für sich hämolytischer Extrakt von Zeit zu Zeit einmal mit irgendeinem Meerschweinchenserum eine Hemmung gibt. Wir haben aber bei solchen Gelegenheiten des öfteren konstatiert, daß uns diese Unregelmäßigkeit des Versuches auch durch die Differenzen aufgefallen wäre, die an solchen Tagen zwischen der inaktiven und aktiven Untersuchung bestanden, da wir grade durch unsere Parallelversuche ein Mittel haben, auf unspezifische Bindungen aufmerksam gemacht zu werden.

Ganz anders stellte sich der Erfolg der mehrmaligen Paralleluntersuchungen, als ich die Sera für dieselben auswählte, und zwar alle diejenigen, die bei der ersten sowohl aktiv wie inaktiv ausgeführten Untersuchung in den Resultaten differierten, indem sie sich entweder inaktiv positiv und aktiv negativ oder umgekehrt verhalten hatten. Späterhin zog ich auch alle die Sera zur mehrmaligen Prüfung heran, die bei der ersten Untersuchung entweder aktiv oder inaktiv oder mit beiden Methoden halbe Hemmungen (Kuppe) gegeben hatten.

Während die Sera der Tabelle I, die gleich das erste Mal ein übereinstimmendes Resultat nach Wassermann und Stern zeigten, in 92 Proz. auch gegenüber einer zweiten und dritten Untersuchung konstant blieben, ersehen wir aus der nachstehenden Tabelle II, daß die Sera, die von Anfang an in den Resultaten der beiden Methoden differierten oder nur halbe Hemmungen gaben, auch in der weitgehendsten Weise bei späteren Untersuchungen variieren können. Unter 100 solchen Seren, die 2- bis 3mal, zum Teil auch noch häufiger, wenn die Quantität ausreichte, aktiv und inaktiv untersucht wurden, haben 72 Proz. ihre Resultate der ersten Untersuchung verändert. In 54 dieser Fälle bestand der Grund, weshalb die Sera zur mehrmaligen Untersuchung herangezogen wurden, in einer Differenz der Resultate zwischen der aktiven und inaktiven Methode bei der ersten Prüfung, während in den meisten übrigen Fällen eine halbe Hemmung der Hämolyse Anlaß zur weiteren Prüfung gegeben hatte. Der Umschwung der Reaktion tritt mit beiden Methoden annähernd gleich häufig auf. Alles Nähere ist aus den Protokollen ersichtlich, auf deren einzelne Nummern in den betreffenden Stellen des Textes verwiesen wird.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

3malige Untersuchung von 100 ausgewählten Seren nach Wassermann und meiner Modifikation.

(K. = Kuppe, k. K. = kleine Kuppe, gr. K. = große Kuppe, ikp. = inkomplett, kp. = komplett, N. H. = neues Hammelblut, + = positiv, 0 = negativ. Die linksseits in Klammer stehenden Buchstaben und Zahlen gehören zu den aktiven, die rechtsseitig stehenden zu den inaktiven Resultaten.

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung	No. des syphil. Extrakt.	Bemerkungen
1	10 364	Lues ?	9. VIII.	+	0 (K.)	8670	
			10. VIII.	—	+	„	N. H.
2	10 368	Lues unwahrscheinlich	9. VIII.	+	0 (K.)	„	
			10. VIII.	—	+	„	
3	10 384	Lues lat.	9. VIII.	(ikp.) 0	+	„	
			10. VIII.	(0,1) +	—	„	
4	10 435	Lues lat.	12. VIII.	+	0 (ikp.)	„	N. H.
			13. VIII.	—	+	„	
5	10 451	Lues lat.	13. VIII.	(K) 0	+	„	
			14. VIII.	—	0 (K.)	„	
6	10 482	Lues lat.	16. VIII.	+	0 (k. K.)	„	
			17. VIII.	—	+	„	N. H.
7	10 486	Lues I	16. VIII.	+	0 (K.)	„	
			17. VIII.	—	+	„	
8	10 526	Lues lat.	17. VIII.	(kp.) 0	+	„	
			18. VIII.	C	0 (ikp.)	„	
			19. VIII.	—	0 (ikp.)	„	
9	10 531	Lues lat.	17. VIII.	+	0 (ikp.)	„	
			18. VIII.	+	0 (K.)	„	
			19. VIII.	—	0 (ikp.)	„	N. H.
10	10 532	Lues lat.	17. VIII.	+	0 (K.)	„	
			18. VIII.	+	0 (K.)	„	
			19. VIII.	—	0 (K.)	„	
			20. VIII.	—	+	„	
11	10 533	Lues lat.	17. VIII.	+	0 (ikp.)	„	
			18. VIII.	+	0 (K.)	„	
			19. VIII.	—	0 (k. K.)	„	
			20. VIII.	—	+	„	
12	10 567	Lues lat.	19. VIII.	+	0 (K.)	„	
			20. VIII.	(K) 0	+	„	
13	10 571	Lues	19. VIII.	+	0 (K.)	„	
			20. VIII.	—	+	„	
14	10 570	Lues lat.	19. VIII.	+	0 (ikp.)	„	
			20. VIII.	—	+	„	
15	10 580	Leucoderma	19. VIII.	(k. K.) 0	+	„	
			20. VIII.	(0,1) +	+	„	
16	10 594	Lues lat.	20. VIII.	(kp.) 0	+	„	
			21. VIII.	(0,1) 0	0 (kp.)	„	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung	No. des syphil. Extrakt.	Bemerkungen
17	10 606	Lues-Verdacht	21. VIII.	+	0 (K.)	9742	
			23. VIII.	—	+	„	N. H.
18	10 633	P. A.?	23. VIII.	+	0 (K.)	„	
			24. VIII.	—	0 (kp.)	„	
19	10 632	Lues lat.	23. VIII.	(K.) 0	0 (kp.)	„	
			24. VIII.	—	0 (kp.)	„	
20	10 676	Lues?	25. VIII.	+	0 (K.)	„	
			26. VIII.	+	+	„	N. H.
			27. VIII.	C	0 (kp.)	„	
21	10 677	Lues	25. VIII.	+	0 (K.)	„	
			26. VIII.	+	+	„	
			27. VIII.	+	0 (kp.)	„	
22	10 678	Lues lat.	25. VIII.	+	0 (K.)	„	
			26. VIII.	+	+	„	
			27. VIII.	+	0 (k. K.)	„	
23	10 671	Lues lat.	25. VIII.	+	0 (K.)	„	
			26. VIII.	+	—	„	
			27. VIII.	+	0 (K.)	„	
24	10 686	Ulcus molle, später sichere Lues II	26. VIII.	(K.) 0	0 (k. K.)	„	
			27. VIII.	(0,1) +	0 (kp.)	„	
25	10 843	dasselbe Serum	4. IX.	(k. K.) 0	+	„	
			6. IX.	(0,1) +	+	„	
			7. IX.	+	+	„	
			8. IX.	+	+	„	
			9. IX.	+	+	„	
26	10 687	Lues	26. VIII.	+	0 (kp.)	„	
			27. VIII.	+	0 (kp.)	„	
27	10 713	Lues-Verdacht	27. VIII.	+	0 (k. K.)	„	
			28. VIII.	+	+	„	
28	10 809	Lues lat.	1. IX.	+	0 (K.)	„	N. H.
			3. IX.	+	+	„	
29	10 824	Lues III od. Tb?	3. IX.	(K.) 0	0 (k. K.)	„	
			4. IX.	(0,1=K.) 0	+	„	
30	10 853	Lues	6. IX.	+	0 (K.)	„	
			7. IX.	+	0 (kp.)	„	N. H.
			8. IX.	+	0 (kp.)	„	
31	10 844	Lues I u. II	6. IX.	(K.) 0	+	„	
			7. IX.	(0,1) +	0 (ikp.)	„	
			8. IX.	(0,1) +	0 (ikp.)	„	
32	10 860	Lues?	6. IX.	(k. K.) 0	+	„	
			7. IX.	(0,1) +	0 (k. K.)	„	
			8. IX.	(0,1) +	0 (k. K.)	„	
			9. IX.	(0,1) +	0 (K.)	„	N. H.
33	10 871	Lues lat.	7. IX.	(gr. K.) 0	+	„	
			8. IX.	(0,1=K.) 0	+	„	
			9. IX.	(ikp.) 0	—	„	
34	10 882	starker Luesverdacht	7. IX.	(K.) 0	0 (kp.)	„	
			8. IX.	+	0 (kp.)	„	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung	No. des syphil. Extrakt.	Bemerkungen
35	10 887	Lues lat.	8. IX.	(gr. K.) 0	0 (K.)	9742	
			9. IX.	+	+	„	
36	10 914	Lues lat.	9. IX.	(k. K.) 0	+	„	
			10. IX.	(0,1) +	+	„	
37	10 916	Lues lat.	9. IX.	+	0 (K.)	„	
			10. IX.	+	0 (kp.)	„	
38	10 917	Lues lat.	9. IX.	(k. K.) 0	+	„	
			10. IX.	+	0 (kp.)	„	
39	10 936	Lues lat.	10. IX.	(gr. K.) 0	0 (ikp.)	„	
			11. IX.	+	+	„	
40	10 953	Lues?	11. IX.	(K.) 0	+	10 005	
			13. IX.	(0,1) +	—	„	
41	10 964	Lues lat.	13. IX.	(k. K.) 0	+	„	
			14. IX.	(0,1) +	0 (k. K.)	„	
			15. IX.	(0,1) +	—	„	
42	11 013	Lues lat.	14. IX.	(K.) 0	0 (kp.)	9742	
			15. IX.	+	0	„	
			16. IX.	+	0 (ikp.)	„	N. H.
43	11 030	Lues?	15. IX.	(K.) 0	0 (kp.)	„	
			16. IX.	(0,1) +	+	„	
44	11 037	Lues?	15. IX.	+	0 (kp.)	„	
			16. IX.	+	0 (k. K.)	„	
45	11 045	Lues lat.	16. IX.	(kp.) 0	+	„	
			17. IX.	(k. K.) 0	+	„	
46	11 059	Lues? Leber sehr vergrößert, nach der Kur sehr zurückgegangen	16. IX.	(kp.) 0	+	„	
			17. IX.	(kp.) 0	0 (ikp.)	„	
			18. IX.	+	0 (kp.)	„	
			20. IX.	(ikp.) 0 (0,1=+)	0 (ikp.)	„	
			21. IX.	(k. K.) 0 (0,1=+)	0 (ikp.)	„	N. H.
47	11 084	beginnender P. A.? Patient entzog sich d. Weiterbeobacht.	18. IX.	(gr. K.) 0	0 (kp.)	„	
			20. IX.	(gr. K.) 0	0 (kp.)	„	
			21. IX.	+	0 (kp.)	„	
48	11 127	Lues lat.	21. IX.	+	0 (kp.)	„	
			22. IX.	+	0 (ikp.)	„	
49	11 148	Lues lat.	22. IX.	(kp.) 0	+	„	
			23. IX.	(k. K.) 0	0 (kp.)	10 005	N. H.
50	11 149	Lues lat.	22. IX.	(k. K.) 0	+	9742	
			23. IX.	+	0 (K.)	10 005	
51	11 182	Lues II	24. IX.	(k. K.) 0	+ ?	„	
			25. IX.	(0,1) +	+	„	
			27. IX.	(0,1) 0	0 (kp.)	„	
52	11 187	Lues lat.	24. IX.	+	0 (kp.)	„	
			25. IX.	+	0 (kp.)	„	
53	11 190	Lues?	24. IX.	+	0 (kp.)	„	
			25. IX.	+	+	„	
			27. IX.	+	0 (ikp.)	„	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung	No. des syphil. Extrakt.	Bemerkungen
54	11 214	Lues II	27. IX.	+	0 (ikp.)	10 005	N. H.
			28. IX.	+	0 (K.)	„	
55	11 221	Lues lat.	27. IX.	+	0 (kp.)	„	
			28. IX.	+	0 (K.)	„	
56	11 222	Lues III	27. IX.	+	0 (ikp.)	„	
			28. IX.	+	0 (K.)	„	
57	11 227	Lues II	27. IX.	+	0 (ikp.)	„	
			28. IX.	+	+	„	
			29. IX.	+	+	„	
			30. IX.	+	+	„	
			1. X.	+	+	„	
58	11 235	Lues lat.	27. IX.	+	0 (kp.)	„	
			28. IX.	+	+	„	
			29. IX.	+	+?	„	
59	11 252	Lues I und II	28. IX.	(ikp.) 0	+	„	
			29. IX.	(K.) 0	+	„	
60	11 257	Lues II	28. IX.	(gr. K.) 0	+	„	
			29. IX.	(k. K.) 0	+	„	
			30. IX.	(K.) 0	+	„	N. H.
61	11 272	Lues?	29. IX.	+	0 (k. K.)	„	
			30. IX.	+	0 (k. K.)	„	N. H.
			1. X.	+	0 (kp.)	10 701	
62	11 286	Lues II	30. IX.	(kp.) 0	+	10 005	
			1. X.	(kp.) 0	0 (K.)	„	
			2. X.	(0,1) +	+	10 701	
			4. X.	(0,1) +	+	10 005	
63	11 316	Lues latens	1. X.	+	0 (ikp.)	„	
			2. X.	(kp.) 0	0 (kp.)	10 701	
			4. X.	(0,1) +	—	„	
64	11 324	Lues	1. X.	+?	+?	10 005	
			2. X.	+	+	10 701	
			4. X.	+	+	„	
65	11 340	Lues I	2. X.	(ikp.) 0	0 (K.)	„	
			4. X.	+	+	„	
			5. X.	(0,1 = +) 0	0 (kp.)	„	N. H.
			6. X.	(0,1 = +) 0	0 (kp.)	„	
			7. X.	+?	0 (kp.)	„	N. H.
			8. X.	+?	0 (kp.)	„	
			9. X.	(ikp.) 0	0 (kp.)	„	
66	11 350	Lues latens	2. X.	(kp.) 0	0 (K.)	„	
			4. X.	+	+	„	
67	11 375	Lues III	4. X.	+	0 (K.)	„	
			5. X.	+	0 (kp.)	9 742	N. H.
68	11 379	Lues lat.	5. X.	+	0 (ikp.)	„	
			6. X.	(gr. K.) 0	0 (ikp.)	„	
			7. X.	(K.) 0	—	„	N. H.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung	No. des syphil. Extrakt.	Bemerkungen
69	11 388	Lues lat.	5. X.	+	0 (kp.)	9742	
			6. X.	(K.) 0	0 (k. K.)	„	
			7. X.	+	0 (kp.)	„	
			8. X.	+?	0 (kp.)	„	
			9. X.	+?	0 (kp.)	„	
70	11 391	Lues I	5. X.	(gr.K.) 0	0 (ikp.)	„	
			6. X.	+	+	„	
71	11 415	Lues lat.	6. X.	(K.) 0	+	„	
			7. X.	(kp.) 0	0 (ikp.)	„	
			8. X.	+	+	„	
72	11 431	Lues lat.	7. X.	+	0 (kp.)	„	
			8. X.	+	+	„	
			9. X.	+	0 (kp.)	„	Inaktiv mit Baryumsulfat (nach Wechselmann) behandelt = o Aktiv dto. = +
73	11 456	Lues II	7. X.	(gr.K.) 0	0 (k. K.)	„	
			8. X.	+	0 (k. K.)	„	
			9. X.	—	0 (kp.)	„	
74	11 454	Lues lat.	7. X.	(kp.) 0	0 (kp.)	9742	Aktiv mit Baryumsulfat behandelt = + Inaktiv dto. = o
			8. X.	+	0 (kp.)	„	
75	11 465	Lues I und II	8. X.	+	0 (k. K.)	„	
			9. X.	+	0 (k. K.)	„	
76	11 472	Lues I	8. X.	+	0 (kp.)	„	
			9. X.	(K.) 0	0 (kp.)	„	
77	11 479	Lues lat.	8. X.	+	0 (kp.)	„	
			9. X.	(k. K.) 0	0 (kp.)	„	
78	11 507	Lues wahrscheinlich	11. X.	+	0 (kp.)	„	N. H.
			12. X.	—	+	„	
79	11 502	Lues	11. X.	+	0 (kp.)	„	
			12. X.	—	+	„	
80	11 511	Lues III	12. X.	(K.) 0	+	„	
			13. X.	(0,1) +	0 (K.)	„	
81	11 514	Lues II	12. X.	(K.) 0	+	„	
			13. X.	(0,1) 0	+	„	
			14. X.	C	+	„	
82	11 518	Lues II	12. X.	(K.) 0	+	„	
			13. X.	(K.) 0	+	„	
			14. X.	(0,1) +	—	„	
83	11 524	Lues lat.	12. X.	(ikp.) 0	+	„	
			13. X.	(kp.) 0	0	„	
84	11 548	Lues I?	13. X.	(K.) 0	0 (kp.)	9742	N. H.
			14. X.	+	0 (ikp.)	„	
85	11 558	Lues?	13. X.	(K.) 0	0 (ikp.)	„	
			14. X.	(0,1) +	+	„	
86	11 600	Lues III	15. X.	(K.) 0	+	„	
			16. X.	+	+	„	
			18. X.	+	+	„	
87	11 630	Lues und Tabes	16. X.	(K.) 0	0 (kp.)	„	
			18. X.	+	0 (kp.)	„	
			19. X.	+?	—	„	N. H.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	No. des Serums	Diagnose	Datum der Untersuchung	Aktive Untersuchung	Inaktive Untersuchung	No. des syphil. Extrakt.	Bemerkungen
88	11 634	Lues III	16. X.	+	0 (ikp.)	9742	
			18. X.	+	0 (kp.)	„	
			19. X.	+	0 (kp.)	„	
89	11 642	Lues lat.	18. X.	+	0 (kp.)	„	
			19. X.	+	0 (ikp.)	„	
90	11 651	Lues?	18. X.	+	0 (ikp.)	„	
			19. X.	+	0 (kp.)	„	
91	11 683	Lues II	19. X.	(kp.) 0	0 (kp.)	„	Mit Baryumsulfat = 0
			20. X.	+?	+	„	
92	11 691	Lues lat.	19. X.	(k. K.) 0	0 (kp.)	„	
			20. X.	+	0 (kp.)	„	
93	11 711	Lues I und II	20. X.	(K.) 0	+	„	
			21. X.	+	+	„	N. H.
			22. X.	+	+	„	
94	11 716	Lues I	20. X.	(K.) 0	0 (K.)	„	
			21. X.	+	+	„	
95	11 707	Lues lat.	20. X.	(K.) 0	+	„	
			21. X.	+	+	„	
96	11 734	Tabes; Lues?	20. X.	+	0 (kp.)	„	
			21. X.	+	0 (K.)	„	
			22. X.	+	0 (K.)	„	
97	11 733	Lues lat.	20. X.	(K.) 0	+	„	
			21. X.	+	+	„	
			22. X.	+	+	„	
98	11 744	Lues I und II	22. X.	(gr. K.) 0	+	„	
			23. X.	(K.) 0 (0,1 = +)	+	„	
99	11 758	Lues I	21. X.	+	0 (ikp.)	„	
			22. X.	+	0 (ikp.)	„	
			23. X.	+	0 (kp.)	„	
			25. X.	+	0 (kp.)	„	
100	11 768	Lues lat.	22. X.	(K.) 0	0 (kp.)	„	
			23. X.	+	0 (kp.)	„	

Die großen Unterschiede in den Zahlen der Tabelle I und II — 8 Proz. gegenüber 72 Proz. Umkehrungen der Reaktion — können nicht durch Zufälligkeiten hervorgerufen worden sein. Vielmehr scheint mir die Ursache in folgendem zu liegen: Nach meinen früheren und seither mit größter Sorgfalt fortgesetzten Untersuchungen, die von verschiedenen Seiten bestätigt worden sind, gibt meine Modifikation feinere Ausschläge als die ursprüngliche Methode und weist in einer Anzahl von Fällen schon oder noch syphilitische Reaktionsstoffe in Seren nach, die nach Wassermann negativ sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da nun die Tabelle II sich hauptsächlich aus solchen differierenden Seren zusammensetzt, ist man wohl zu der Annahme berechtigt, daß es sich hier meist um Sera handelt, die die Reaktionsstoffe in geringerer Anzahl enthalten, als die konstant bleibenden Sera der Tabelle I. Es ist darum mit der Möglichkeit zu rechnen, daß sich der Grenzwert dieser schwach positiven Sera durch die geringsten Zufälligkeiten leicht nach oben oder unten verschieben kann. Für das Zustandekommen solcher Verschiebungen kann man mehrere Momente verantwortlich machen, die größtenteils mit der Verwendung der zu der Reaktion nötigen variabeln Faktoren zusammenhängen:

I. Das Meerschweinchenkomplement.
II. Das Hammelblut.
III. Den hämolytischen Ambozeptor.
IV. Das Menschenkomplement.

I. Das Meerschweinchenkomplement.

In erster Reihe kommen für die inaktive Methode alle die Fehlerquellen in Betracht, die mit der Verwendung des Meerschweinchenkomplements verknüpft sind.

Dasselbe wird für die Versuche täglich frisch entnommen und in der Verdünnung 1:20 verwendet. Durch einen Vorversuch wird jedesmal der Titer festgestellt, die oft sehr bedeutenden Schwankungen im Titer der Meerschweinchensera werden durch Verstärkung oder Abschwächung des hämolytischen Ambozeptors ausgeglichen, so daß der eigentliche Versuch mit der 3—4-fach Hammelblut lösenden Dosis Komplement-Ambozeptor angesetzt wird.

Außer mit den Schwankungen des Titers der verschiedenen Meerschweinchensera haben wir aber im Versuch noch mit ihren individuellen Eigenschaften zu rechnen. Von Facchini (4), Browning (5) und Mc. Kenzie ist durch Versuche festgestellt worden, daß die Komplementmenge, die von einem bestimmten Gemisch von luetischem Serum und Organextraktemulsion gebunden wird, von den individuellen Eigenschaften des komplementhaltigen Serums

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abhängig ist[1]). So wird z. B. nach Browning und Mc. Kenzies Versuchen mit einem Komplement $1^1/_2$mal so viel gebunden als mit einem anderen. Die Unterschiede der Meerschweinchensera in der Ablenkbarkeit des Komplements, insbesondere auch bei gleicher Wirksamkeit des hämolytischen Systems, bewirken nach den Untersuchungen der genannten Autoren merkliche Schwankungen in der positiven Reaktionsbreite luetischer Sera. Wir haben also darnach zu unterscheiden zwischen schwer deviablen und leicht deviablen Komplementen. Wir können, wenn wir heute mit einem Komplement arbeiten, das leichter und in größerer Quantität gebunden wird, da noch positive Resultate erhalten, wo wir sie morgen mit einem schwer deviablen Komplement nicht mehr finden. Für den Ausfall einer starken Reaktion sind solche Schwankungen belanglos, nicht aber für solche Sera, die so schwach reagieren, daß sie nur unter besonders günstigen Bedingungen ein positives Resultat geben können.

Nach meinen eigenen Erfahrungen kann die Ablenkbarkeit des Meerschweinchenserums so minimal sein, daß an einem solchen Tage fast sämtliche syphilitische Sera im Versuch negativ reagieren. Ebenso habe ich mehrmals konstatieren können, daß die Deviabilität so groß war, daß auch nicht syphilitische Sera positiv wurden, z. B. in den von mir im Anfang zitierten Fällen No. 15, 16, 17 der Tabelle I. Ueber ähnliche Befunde habe ich in einer früheren Arbeit berichtet und auch damals den Grund des Phänomens in besonderen Eigenschaften des Meerschweinchenserums vermutet.

Ich arbeitete damals allerdings nicht mit ganz frischem, sondern 40 Stunden altem Meerschweinchenkomplement und suchte die Ursache der durchweg negativen Resultate bei sicher syphilitischen Seren, die sich

1) Bei dieser Gelegenheit möchte ich meiner Vermutung Ausdruck geben, daß auch die Komplementmenge, die von einem Gemisch von hämolytischem Serum (Hammelblut-Kaninchen) und Hammelblut gebunden wird, von den individuellen Eigenschaften des zur Komplettierung des hämolytischen Systems verwandten Meerschweinchenserums abhängig sein könnte. Ich habe beobachtet, daß bei mehrmaligen Untersuchungen zweier ziemlich gleichwertiger hämolytischer Sera bald das eine und bald das andere den höheren Titer zeigte, wenn verschiedene Meerschweinchenkomplemente zu den Prüfungen verwendet wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch am nächsten Tage mit anderem Komplement als positiv erwiesen, in Komplementoidbildung des Meerschweinchenserums. (Meirowsky berichtet über ähnliche Erfahrungen mit 2 Tage altem Komplement.) Es war nun mit der Möglichkeit zu rechnen, daß auch im frischen Meerschweinchenserum sowohl, wie im Patientenserum eine Komplementoidbildung vor sich gehen könnte, so daß diese also gewissermaßen einen Spezialfall der mangelnden Deviabilität der Sera darstellen würde. Um derartige Komplementoidbildungen, die ein positives Resultat verschleiern konnten, in inaktiven Patientenseren aufzudecken, hatte ich im Anschluß an meine frühere Arbeit Versuche angestellt: ich ließ sicher syphilitische inaktive Sera, in denen ich Komplementoide vermutete, vor dem Ansetzen des eigentlichen Versuches eine Stunde, zusammen mit hämolytischem Ambozeptor und Hammelblut bei 37° im Brütofen binden, um die Komplementoide abzusättigen, zentrifugierte das Hammelblut ab und setzte erst dann die Sera zum Versuch an. Die Resultate waren stets negativ wie vorher. In jüngster Zeit ist von Wechselmann (14) zur Zerstörung der Komplementoide im inaktivierten Menschenserum empfohlen worden, die betreffenden Sera mit Baryumsulfat zu schütteln. Es ist mir in der Tat wiederholt damit gelungen, positive Resultate bei syphilitischen Seren zu erhalten, die vorher negativ waren. Ich habe die Methode mehrmals auch bei aktiven Seren angewandt und habe auch hier manchmal ein positives Resultat bekommen. Es hat sich in diesen Fällen augenscheinlich um eine Abschwächung des zu starken menschlichen Komplements gehandelt, eine Methode, die praktisch verwertbar sein dürfte.

Derartige extreme Manifestationen des Meerschweinchenserums sind selten und müssen einem geübten Untersucher sofort auffallen. Eine nochmalige Untersuchung der Sera mit einem anderen Meerschweinchenserum gibt wieder die gewohnten richtigen Resultate. Bei gleichzeitiger Untersuchung mit inaktiven und aktiven Seren wird jedoch die Sicherheit, mit der man in solchen Fällen auf einen Versuchsfehler schließen kann, um so größer, als sich die Sera unter diesen Umständen im aktiven Versuch entgegengesetzt verhalten werden wie im inaktiven, da die durch das Meerschweinchenkomplement verursachte Fehlerquelle nur den inaktiven Versuch tangiert.

Einen anderen Beweis, wie einschneidend die individuellen Eigenschaften des Meerschweinchenkomplements für den Ausfall der Reaktion sein können, sehe ich darin, daß es mitunter vorkommt, daß ein Serum im Versuchsröhrchen sowohl, wie in der Kontrolle, bei der ersten Untersuchung total gehemmt ist, während bei einer zweiten Prüfung mit anderem Meerschweinchenkomplement in beiden Röhrchen Hämolyse eintritt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Das Hammelblut.

Ein zweiter Faktor, der geeignet ist, ein schwach positives Serum in seiner Reaktion zu beeinflussen, besteht in den Schwankungen in der Resistenz der roten Hammelblutkörperchen. Schon in der ersten ausführlichen Mitteilung von Wassermann (6), Neisser, Bruck und Schucht ist festgestellt worden, daß durch fortgesetzte Blutentziehung bei einem und demselben Tier die roten Blutkörperchen fragil werden und in ihrer Struktur leiden, so daß ihre Löslichkeit zunimmt. Außerdem haben Miessner (7) und Trapp darauf hingewiesen, daß auch die Löslichkeit der Blutkörperchen verschiedener Hammel sich keineswegs gleich verhält und von der ihnen eignen Labilität abhängt.

Wir beziehen das Hammelblut für unsere Versuche 2mal wöchentlich direkt vom Schlachthof, wo es beim Töten des Tieres steril aufgefangen wird. Zur Reserve dient uns ein Hammel unseres Stalles.

Obgleich für unsere Versuche das Hammelblut täglich in derselben Weise eine halbe Stunde gewaschen und zentrifugiert wird, um stets die gleiche Konzentration zu erzielen, sieht eine 5-proz. Emulsion sehr verschieden aus. Sie ist an manchen Tagen so dünn und hell, daß wir lediglich nach dem Aussehen der Farbe — eine allerdings nicht einwandfreie Beurteilung — solange Blut zusetzen, bis wir die Dichtigkeit erhalten, die unserem Auge richtig erscheint. Es kommt oft vor, daß wir, statt mit einer 5-proz. Emulsion mit einer 7,5-proz. bis 10-proz. arbeiten. Wollte man aber an solchen Tagen auf der Forderung einer 5-proz. Emulsion bestehen, so würde das auf Kosten eines Teils der positiven Resultate im Versuch geschehen. Offenbar hängt das verschiedene Aussehen einer 5-proz. Emulsion von dem wechselnden Hämoglobingehalt der roten Blutkörperchen ab.

Es ist leicht einzusehen, daß alle diese Verhältnisse praktisch von großer Bedeutung sind. Ist es aber schon nicht möglich, diese Fehlerquellen ganz auszuschalten, so kommen für den eigentlichen Versuch noch neue Momente hinzu, welche die Hämolyse zu beeinflussen geeignet sind. So glaubt Facchini, daß besondere Verhältnisse zwischen den einzelnen Menschenserum-Ambozeptoren gegenüber Hammelblut-

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

körperchen Platz greifen können und daß die verschiedenen Hammelblutkörperchen nicht in gleicher Weise empfindlich sind gegenüber ein- und demselben menschlichen Serum.

Ich kann nach meinen Beobachtungen, an der Hand meiner mehrmaligen Untersuchungen desselben Serums, bestätigen, daß aus einer negativen Reaktion bei einer Wiederholung eine positive werden kann (und umgekehrt), ohne daß etwas anderes als das Hammelblut am Versuch verändert worden wäre. So würde ich z. B. in den Fällen 93, 94, 95, 97 an die Möglichkeit denken, daß durch das Hinzutreten eines anderen Hammelbluts aus der negativen Reaktion eine positive geworden sei.

Um zu beweisen, daß allein im neu hinzugekommenen Hammelblut die Ursache des Umschlags der Reaktion zu suchen ist, wäre allerdings eine ganz andere exakte Versuchsanordnung erforderlich, da selbst bei der Untersuchung mit aktivem Serum, wo der veränderlichste Komponent, das Meerschweinchenserum, fortfällt, noch andere unberechenbare Nebenumstände, wie Veränderung des Komplements durch Stehen, unbedeutende Differenzen in der Blutemulsion etc. nicht ausgeschaltet werden können. Facchini, Browning und Mc. Kenzie haben wohl experimentell gezeigt, welche Veränderungen die Reaktion durch die individuellen Eigenschaften eines einzelnen Faktors, mit dessen Beständigkeit man im Anfang gerechnet hatte (Komplement, Hammelblut), erleiden kann. Da aber fast allen bei der Komplementbindung verwendeten Faktoren, sowohl die Hämolyse befördernde, als diese hemmende Eigenschaften zukommen, so ist selbst im exaktesten Versuch die Schätzung oder gar Berechnung dieser sich teils entgegenarbeitenden, teils unterstützenden Kräfte, deren Größe wir nicht kennen, bis zum gewissen Grade illusorisch.

Ebenso kann ich Facchinis Beobachtungen über den Einfluß der hämolytischen Eigenschaft des syphilitischen Leberextrakts auf die verschiedenen Hammelblutkörperchen bestätigen, und zwar durch die Erfahrungen, die ich durch die tägliche Kontrolle in unserer Versuchsanordnung: syphilitischer Extrakt allein mit Hammelblut, gemacht habe. Man kann hier öfters beobachten, daß die hämolytische Eigenschaft

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Extrakts an manchen Tagen verringert und sogar ganz aufgehoben ist, ohne daß die eine oder die andere Tatsache dem spezifischen Ausfall des Versuches etwas geschadet hätte. Wir glauben daher von der von Sachs (8) und Altmann geforderten Kontrolle, jeden Extrakt auf seine hämolytische Eigenschaft zu prüfen und ihn nur in einer Dosis für den Versuch zu verwenden, in der er nicht mehr hämolytisch wirkt, absehen zu können. Daß aber eine größere oder geringere Resistenzfähigkeit der Hammelblutkörperchen die Reaktion schwach positiver Sera beeinflussen kann, ist trotzdem kaum von der Hand zu weisen.

III. Hämolytischer Ambozeptor.

Ein anderes Moment, das ich zwar nicht so hoch einschätze, daß es die Reaktion eines stark positiven Serums in Frage stellen könnte, aber das doch wohl imstande ist, die Labilität eines gerade an der Grenze stehenden Serums zu beeinflussen, sehe ich in der Ungenauigkeit bei der Bestimmung des Komplement- bezw. Ambozeptortiters. Wir setzen den Vorversuch in 6 Verdünnungen des Ambozeptors an, und zwar $^1/_2$, $^1/_3$, $^1/_4$, $^1/_6$ und $^1/_8$ ccm des verdünnten Ambozeptors. Ist die Hämolyse innerhalb einer Stunde in den ersten Röhrchen eingetreten und sind die anderen abstufend gehemmt, so ist der Vorversuch normal ausgefallen, und man kennt die Konzentration der Komplement-Ambozeptormischung, mit der man arbeitet. Es wird wohl aber jedem Untersucher auffallen, wie häufig der Vorversuch nicht vorschriftsmäßig ausfällt. Es kommt z. B. oft vor, daß Röhrchen 1 komplett gelöst ist und No. 2—6 ziemlich gleichmäßig geringe Hemmungen zeigen. Hier ist man nicht mehr imstande, zu beurteilen, wie stark das Komplement ist. Man entscheidet nach seinen Erfahrungen ungefähr richtig, da der Versuch jedenfalls funktioniert, aber hier liegt doch eine Fehlerquelle, die sich gerade bei den Grenzseren bemerklich machen wird.

IV. Das Menschenkomplement (im aktiven Versuch).

Bei den Untersuchungen mit aktivem Serum muß man in allen Fällen in Tabelle II, z. B. No. 34, 35, 36, 38, die am

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

ersten Tage halbe Lösung zeigten und jedenfalls negativ bewertet wurden, aber nach 24 oder 48 Stunden eine positive Reaktion gaben, in erster Reihe einen Ueberschuß von Menschenkomplement zur Erklärung des Phänomens der am ersten Tage nicht eingetretenen Hemmungen annehmen. Das zu starke Komplement hat die positive Reaktion verdeckt, die aber zutage tritt, sobald sich das Komplement durch 24—48-stündiges Stehen verringert hat.

Auch in allen Fällen der Tabelle, die, mit 0,2 Serum untersucht, negativ reagierten, in halber Dosis (0,1) aber positiv (Tabelle II, z. B. No. 31, 32, 36, 40 u. a.), wird es sich vermutlich meistens um eine Verdeckung des positiven Resultats durch zu starkes Komplement gehandelt haben (trotzdem berücksichtige ich eine Hemmung in der geringeren Konzentration des Serums nur in sehr seltenen Fällen für die Diagnose, da die Kontrollen sehr oft nicht einwandfrei gelöst sind, und es gefährlich ist, mit einem Minimum von Komplement zu arbeiten). — —

Anders als in den bisher besprochenen Ausfällen der Reaktion muß man die Fälle auffassen, die dauernd — bei mehrmaliger Untersuchung — ihre Reaktion beibehalten, ohne von Zufälligkeiten (neues Hammelblut, Komplement) berührt zu werden, sei es in der Weise, daß sie aktiv positiv und inaktiv negativ reagieren oder umgekehrt. Nur in 6 Fällen meiner Tabelle, z. B. bei No. 33, 60, 81 war das letztere, in 18 Fällen das erstere der Fall, z. B. bei No. 30, 88, 99.

Es scheint, daß der verschiedene Ausfall der beiden Untersuchungsmethoden hier in der Anwendung des aktiven und inaktiven Serums begründet ist.

Mit dem von Sachs und Altmann entdeckten Prinzip, daß aktive Sera eine stärkere Reaktionsfähigkeit haben als inaktivierte, kann man die Fälle erklären, die aktiv dauernd positiv und inaktiv negativ bleiben. Für den umgekehrten Fall wäre an die Möglichkeit zu denken, daß die Deviabilität des Komplements im menschlichen Serum eine andere ist gegenüber den verschiedenen Serumextraktverbindungen als die des Meerschweinchenkomplements.

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Wie man aber auch das Ganze theoretisch auffassen möge, **praktisch ist es jedenfalls von großer Wichtigkeit, derartige Fälle sowohl durch die inaktive wie die aktive Methode zu untersuchen, da bald durch diese, bald durch jene ein positives Resultat zutage tritt, das durch die Untersuchung nach einer einzigen Methode unentdeckt geblieben wäre.**

Was die Ursache anbetrifft, weshalb die von mir angegebene Modifikation mehr positive Resultate gibt, so habe ich in einer früheren Arbeit die Vermutung ausgesprochen, „daß durch die Ausschaltung jedes tierischen Serums (des Meerschweinchenkomplements, denn der stark verdünnte Hammelblutambozeptor kommt kaum in Betracht) bei der Reaktion gewisse, freilich noch unbekannte Faktoren, in Wegfall kommen, die zuweilen die Schärfe des Ausschlags zu trüben geeignet sind."

H. Sachs und K. Altmann sind dagegen der Ansicht, daß die Verfeinerung der Methode aller Wahrscheinlichkeit nach nur auf der von ihnen entdeckten Tatsache beruht, daß aktive Sera überhaupt stärker reagieren als inaktivierte. Wenn ich auch die Richtigkeit ihrer Annahme für obige Fälle nicht bestreite, so bin ich doch der Meinung, daß dieser Umstand nicht die alleinige Ursache ist. So haben mir doch grade meine jetzigen wiederholten Untersuchungen ein- und desselben Serums von neuem gezeigt, welche für den Ausfall entscheidende Rolle unter Umständen das Meerschweinchenkomplement spielen kann. Leider kann ich meine Vermutungen, daß bei der geringeren Empfindlichkeit der inaktiven Versuchsanordnung das Meerschweinchenkomplement stark mitspricht, nicht mit exakten Versuchen begründen, da es meiner Ansicht nach keine Versuchsanordnung gibt, die der Frage nach allen Teilen gerecht wird. Sachs und Altmann fordern zur Begründung meiner Ansicht vergleichende Untersuchungen meiner Modifikation mit der Wassermannschen Methode unter Verwendung aktiven Serums. Die Schwierigkeit der Versuchsanordnung liegt in der Bestimmung der dazu verwendeten Extraktdose: wird die originale Versuchsanordnung in denselben Dosen mit aktivem Serum angesetzt, so bekommt man, wie das ja zuerst Sachs gezeigt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hat, keine spezifischen Resultate mehr. Geht man aber mit der Extraktdose herunter — ich hatte die Extraktdose meiner Modifikation: $^2/_5$ der Dose des inaktiven Versuchs, gewählt — bei sonst denselben Mengenverhältnissen der inaktiven Versuchsanordnung, so erhält man negative Resultate bei nach meiner Modifikation positiven Seren. Man kann aber jetzt mit Recht den Einwand machen, daß eine Summierung des Komplements stattfände und die stärkere Reaktionsfähigkeit des aktiven Serums verdecke.

Eine Stütze für meine Ansicht, daß in der Ausschaltung jedes tierischen Serums eine der Ursachen der Verschärfung meiner Modifikation zu suchen ist, sehe ich in den Beobachtungen, die Jacobaeus und Backmann (9) gelegentlich einer vergleichenden Untersuchung der Wassermannschen, der Bauerschen und meiner Methode gemacht haben: „Die Stern-Reaktion, die in einigen Fällen, trotz Gegenwart von natürlichem Komplement, zu positivem Ausfall führt, während die Wassermannsche Reaktion einen negativen zeigt, gibt gern zu der Frage Anlaß, ob die Inaktivierung dabei eine Rolle spielt. Doch hat ja die Bauer-Reaktion in einigen dieser Fälle positiven Ausfall bei hinreichender Gegenwart von Ambozeptor ergeben, weshalb möglicherweise der negative Ausfall der Wassermannschen Reaktion gleichfalls im Zusammenhang mit den artfremden Serumzusätzen und ihrer gegenseitigen Relation steht. Der negative Ausfall der Wassermannschen Reaktion würde hier zunächst durch den Ambozeptorüberschuß verursacht sein.“

Dagegen sprechen die Autoren die Vermutung aus, daß für die negativen Ausfälle nach Stern bei positiver Wassermannscher Reaktion das aktiv verwandte Serum als Ursache heranzuziehen sei: „In 4,45 Proz. der syphilitischen Fälle ist die Sternsche Reaktion negativ ausgefallen, trotzdem Wassermann positiv war. Die Ursache hierfür liegt vielleicht darin, daß bei der Sternschen Reaktion aktives, nicht inaktives Serum angewandt wurde. Diese unsere Auffassung stützen wir darauf, daß bei sämtlichen Versuchen mit Bauers Reaktion in keinem Falle positive Wassermannsche Reaktion bei negativer Bauer-Reaktion erhalten worden ist.“

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn auch die Beobachtungen, die Jacobaeus und Backmann bei ihren Versuchen gemacht haben, sehr für ihre daran geknüpften Vermutungen sprechen, so bin ich doch der Meinung, daß es sich bei der ganzen Komplementbindungsreaktion um sehr viele variable Komponenten handelt, die nicht nur in ihrer Zusammensetzung, sondern auch in ihrem Aufeinanderwirken unberechenbaren Schwankungen unterliegen. Infolge davon kann man eine einheitliche Ursache für eine der verlaufenden Reaktionen nicht ohne weiteres annehmen, aber auch keinen, aus Beobachtung stammenden Beitrag zur Klarstellung der so überaus schwierigen und dunklen Verhältnisse ablehnen.

Wir sehen an der Hand der Tabelle II, daß bei einer einmaligen Untersuchung und besonders, wenn sie nur nach einer Methode inaktiv oder aktiv ausgeübt wird, oft eine Reihe von Zufälligkeiten darüber entscheidet, ob ein schwach positives Serum positiv oder negativ bewertet wird. Möglicherweise beruhen auch die sich oft widersprechenden Resultate verschiedener Forscher bei der Untersuchung der Patientensera vor, während und nach der Behandlung auf der Tatsache, daß die Sera nur einmal inaktiv geprüft wurden. Da gerade unter diesen Seren sich viele mit schwacher Reaktion finden werden, wäre es nicht undenkbar, daß die oft zwischen positiv und negativ regellos schwankenden Resultate sich durch eine aktive und inaktive Untersuchung oder eine mehrmalige Untersuchung nach derselben Methode einheitlicher herausgestellt haben würden.

Es ergibt sich aus dem Vorstehenden von selbst, daß man aus quantitativen Unterschieden der Reaktion zu verschiedenen Zeiten nicht ohne weiteres den Schluß ziehen darf, daß eine Aenderung des syphilitischen Serums (als Folge der Behandlung etc.) vorliegt, wie das Citron vorschlägt, der sogar 4 verschiedene Stärken der Reaktion unterscheidet.

Die von mir empfohlene Modifikation ist nicht, wie ich das zuerst glaubte, eine „Vereinfachung“ der Originalmethode, da sie nur neben derselben angewendet werden soll. Sie bildet aber eine Ergänzung derselben insofern, als bei alleiniger Untersuchung nach der Originalmethode 1) weniger

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

positive Resultate bei Syphilis gewonnen werden als bei einer Prüfung mit inaktivem und aktivem Serum; 2) Untersuchungsfehler unbeachtet bleiben, die nur durch die gleichzeitige Prüfung mit zwei verschiedenen Methoden, deren Fehlerquellen teilweise nicht zusammenfallen, und die sich dadurch gegenseitig kontrollieren, ans Tageslicht gebracht werden können. Auf diese Weise findet eine vorteilhafte Ergänzung beider Untersuchungsmethoden statt.

So wird es z. B. wohl jedem Untersucher aufgefallen sein, daß besonders im inaktiven Versuch die Serumkontrollen an manchen Tagen keine glatten Lösungen geben, sondern leicht gehemmt bleiben. Man würde Bedenken tragen, wenn man nur nach einer Methode untersucht hat, die positiven Resultate unter diesen Umständen zu verwerten. Dagegen ist der Versuch gesichert, wenn die einwandfreien Resultate der zweiten Untersuchungsmethode denen der ersten entsprechen. Auch kommt es nur selten vor, daß ein Serum mit beiden Untersuchungsarten allein, d. h. ohne Extrakt, Hemmung zeigt. Der Gang der Untersuchung wird durch die doppelte Prüfung der Sera langwieriger, aber da die Sicherheit der Diagnose dadurch erhöht ist, darf der vermehrte Zeitaufwand keine Rolle spielen.

Die Methodik der Serumuntersuchung in unserer Klinik ist gegen früher im Anschluß an die Erfahrungen, die wir uns durch die systematische mehrmalige Untersuchung — inaktiv und aktiv — angeeignet haben, in einzelnen Teilen modifiziert worden. Wir hatten bisher nur totale oder fast vollständige Hemmungen der Hämolyse als positiv angesehen und haben daher eine nicht unbedeutende Reihe von sicher syphilitischen Fällen als „negativ“ bewertet, weil nur eine halbe Hemmung der Hämolyse (Kuppe) eingetreten war. Trotzdem erschien uns das noch immer besser, als durch eine weniger strenge Beurteilung gelegentlich einen normalen Menschen zum Syphilitiker zu stempeln, da ohne Zweifel halbe Hemmungen auch bei Normalen und anderen Krankheiten als Syphilis vorkommen. An der Hand der veröffentlichten Tabellen und weiterer Untersuchungen glauben wir

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber jetzt bei sehr subtiler Versuchsanordnung und wiederholten Paralleluntersuchungen, inaktiv und aktiv, ein Recht zu haben, auch die halben Hemmungen nicht mehr außer acht zu lassen, wie das auch Saathoff (11) und Müller (12), von anderen Gesichtspunkten ausgehend, vorgeschlagen haben.

Es ist selbstverständlich, daß wir dabei in allen unsicheren Fällen, die — wie Tabelle II demonstriert — abwechselnd eine ganze und eine halbe oder gar keine Hemmung zeigen, auch die klinischen und anamnestischen Daten für die weitere Untersuchung berücksichtigen. Haben wir doch in Tabelle I gesehen, daß sogar normale Sera — freilich ganz außerordentlich selten — unter Umständen positiv reagieren können, wie das ja auch schon von anderer Seite konstatiert worden ist. So hatte ich z. B. in letzter Zeit Gelegenheit, eine Anzahl Sera von gesunden Menschen, auf deren Aussage man sich verlassen konnte, zu untersuchen und in einem Falle, der anamnestisch und klinisch einwandfrei war, gefunden, daß derselbe mit einem bestimmten Extrakt (der aber mit ein paar hundert Seren als spezifisch erprobt war), inaktiv und aktiv totale Hemmungen gab.

Dasselbe Serum war mit 3 anderen austitrierten Extrakten negativ. Diese Erfahrung spricht für die Seligmannsche (10) Annahme, daß es keinen Extrakt gibt, der nicht irgendwie einmal mit einem nichtsyphilitischen Serum positiv reagieren könnte. Seligmann schlägt deshalb vor, sämtliche Sera gegenüber einer Reihe von verschiedenen Extrakten zu prüfen und sie nur dann als positiv im Sinne von Syphilis zu bezeichnen, wenn die Reaktion übereinstimmend mit allen Extrakten eine positive ist. Nach meinen Erfahrungen würde man allerdings nach dem Seligmannschen Verfahren nur einwandfreie positive Resultate erhalten, aber man würde dabei auch eine Anzahl sicher syphilitische Fälle negativ bewerten müssen, da selbst gleichwertige syphilitische Extrakte den individuellen Eigenschaften der Seren, des Komplements und des Hammelblutes gegenüber sich niemals ganz gleichmäßig verhalten. Trotzdem ist unter Umständen die Heranziehung mehrerer Extrakte zur Prüfung von sehr großem Wert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich möchte hier noch einmal betonen, daß diese unspezifische Hemmung mit beiden Methoden erfolgte, da von einzelnen Autoren hervorgehoben wird, daß nur mit der von mir empfohlenen Modifikation normale Sera positiv reagieren können. Nach meinen sehr reichlichen Erfahrungen kommen unspezifische Hemmungen mit aktivem Serum nicht häufiger vor als mit inaktivem, vorausgesetzt, daß man sich in der Versuchsanordnung genau an die vorgeschriebene Dosierung hält.

Die Untersuchung in unserer Klinik wird jetzt in folgender Weise gehandhabt:

1) Jedes Serum wird inaktiv nach der Originalmethode Wassermann-Neisser-Bruck und aktiv nach meiner Modifikation untersucht.

2) Im Falle einer Differenz beider Methoden werden die Sera von klinisch fraglichen Fällen nach beiden Methoden noch einmal oder mehrmals untersucht, eventuell unter Heranziehung verschiedener ausgewerteter Extrakte.

3) Ein Serum, das bei einer oder bei beiden Methoden eine halbe Hemmung der Hämolyse (Kuppe) ergeben hat, wird nicht ohne weiteres als negativ angesehen, sondern mehrmals untersucht. Wir sind auf diese Weise sehr oft in der Lage, am Schlusse unserer Prüfungen ein sicheres Urteil abzugeben, wenn wir dasselbe auch nicht durch eine einmalige Untersuchung, sondern erst durch eine Anzahl von Versuchen gewonnen haben. Im anderen Falle bezeichnen wir das Serum als „zweifelhaft“ und untersuchen den Patienten in einiger Zeit nochmals.

4) Sera, die bei mehrmaliger Untersuchung niemals mehr als eine halbe Hemmung (Kuppe) zeigen, werden im allgemeinen als negativ angesehen; nur in klinisch verdächtigen Fällen werden sie als „zweifelhaft“ rubriziert und die Patienten in einiger Zeit wieder untersucht.

5) Negative Seren von florider Syphilis werden unter Umständen mehrmals untersucht, eventuell unter Heranziehung der Wechselmannschen Baryumsulfatmethode.

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

6) Positiv ausfallende Sera von anscheinend Gesunden werden stets mehrmals und mit mehreren Extrakten untersucht. Stellt es sich heraus, daß die Hemmung nur mit einem Extrakt stattfindet, so bezeichnen wir das Serum als negativ.

7) Sera, von denen ungenügende Mengen vorhanden sind, werden nur inaktiv untersucht, da im Falle eines Komplementmangels die aktive Untersuchung nicht zum Ziele führen würde. Bei halben Hemmungen (Kuppe) wird kein definitives Urteil abgegeben, sondern eine nochmalige Untersuchung des in größerer Quantität entnommenen Blutes empfohlen. In den meisten dieser Fälle handelt es sich um von auswärts eingesandte Sera, da in der Klinik die Entnahme etwas größerer Blutmengen nur in den seltensten Fällen auf Schwierigkeiten stößt. Wir verfügen meist über 4—5 ccm Serum. Die inaktive Untersuchung kann in halber Dosis stattfinden, während für die aktive stets die vorgeschriebene Menge (0,2) Serum beibehalten wird.

Wenn heute der Wert der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion über allen Zweifel erhaben ist und auch allmählich die größten Skeptiker zugeben, welchen ungeahnten Nutzen diese Entdeckung für praktische und wissenschaftliche Fragen gewährt, so lernen wir beim Studium des weiteren technischen Ausbaues der Reaktion, sowie bei stetig wachsender Erfahrung sowohl mit der Originalmethode als mit den „vereinfachenden“ Modifikationen, immer neue Fehlerquellen auffinden, deren Erkenntnis und Vermeidung nur dem ganz Geübten möglich ist. Wenn das bei einer Reaktion, die auf einem so komplizierten und feinen Mechanismus aufgebaut ist, auch nicht anders zu erwarten war, so mahnt uns diese Tatsache doch, immer mehr an der Forderung festzuhalten, die schon die Entdecker der Reaktion aufgestellt haben: daß nämlich die Syphilisreaktion nicht in die Hand des praktischen Arztes, des beschäftigten Dermatologen oder in die Laboratorien kleiner Krankenhäuser gehört, sondern an große Zentralinstitute, die dank ihres großen Untersuchungs- und Luesmateriales ihre Resultate auch stets in ausreichender Weise zu kontrollieren vermögen. Nur dann kann man von der Reaktion das erlangen, was sie zu leisten imstande ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Literaturverzeichnis.

1) Meirowsky, E., Ueber die von M. Stern vorgeschlagene Modifikation der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion. Berlin. klin. Wochenschr., 1909, No. 28.
2) Stern, Marg., Eine Vereinfachung und Verfeinerung der serodiagnostischen Syphilisreaktion. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909, Heft 3.
3) — Zur Technik der Sero-Diagnostik der Syphilis. Berlin. klin. Wochenschr., 1908, No. 32.
4) Facchini, V., Beiträge zur Technik der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, Heft 3.
5) Browning, C. H., und Mc. Kenzie, On the complement containing serum as a variable factor in the Wassermann-Reaction. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, Heft 4.
6) Wassermann, A., Neisser, Bruck und Schucht, Weitere Mitteilungen über den Nachweis spezifisch-luetischer Substanzen durch Komplementverankerung. Zeitschr. f. Hyg., 1906.
7) Miessner und Trapp, Die Komplementbindung beim Rotz und ihre Beziehungen zur Syphilisreaktion. Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 52, Heft 1.
8) Sachs, H., und Altmann, K., Komplementbindung. Handbuch d. pathog. Mikroorganism. von Kolle-Wassermann, Erg.-Bd. 2, 1909, Heft 3.
9) Jacobaeus, H. C., und Backmann, E. Louis, Ueber verschiedene Modifikationen der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, Heft 1/2.
10) Seligmann, Zur Kenntnis der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909, Heft 2.
11) Saathoff, Erfahrungen mit der Wassermannschen Reaktion in der inneren Medizin. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 39.
12) Müller, Ueber den technischen Ausbau der Wassermannschen Reaktion, nebst klinischen Betrachtungen über deren Wert und Wesen. Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 40.
13) Kleinschmidt, Ueber die Sternsche Modifikation der Wassermannschen Reaktion. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, Heft 5.
14) Wechselmann, Ueber Verschleierung der Wassermannschen Reaktion durch Komplementoidverstopfung. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, Heft 5.
15) Schlimpert und Voswinkel, Beobachtungen bei der Wassermannschen Reaktion. Deutsch. med. Wochenschr., 1909, No. 32.
16) Bruck, C., Die Serodiagnose der Syphilis. Verlag Julius Springer, 1910.
17) Hoehne, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 8.

Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

Zur Technik und praktischen Verwertung der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. **P. Mulzer,**
wissenschaftlicher Hilfsarbeiter am Kaiserl. Gesundheitsamt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Februar 1910.)

In einem am 16. Juli 1909 in der Berliner medizinischen Gesellschaft gehaltenen Vortrag „die Weidanzsche Modifikation der Wassermannschen Syphilisreaktion (Verwendung geringer Blutmengen) und ihre praktische Verwertung", habe ich über eine Vereinfachung dieser von Weidanz ursprünglich für kleinste Blutmengen angegebenen Modifikation[1]) und über meine Erfahrungen berichtet, die ich im Kaiserlichen Gesundheitsamte mit dieser Methode sammeln konnte, berichtet. Weiter habe ich mitgeteilt, daß ich bei verschiedenen syphiliskranken Personen, die mittels dieser Untersuchungsmethode im Verlaufe einer spezifischen Kur mehrmals in kurzen Zeitintervallen serologisch untersucht wurden, wiederholt Schwankungen im Ausfall dieser Reaktion beobachten konnte, die anscheinend weder mit dem jeweiligen Krankheitsbilde noch mit der Intensität der Behandlung in irgendwelchen Zusammenhang zu bringen waren. Aus der bisher erschienenen einschlägigen Literatur geht wohl hervor, daß auch andere Autoren derartige Schwankungen der Reaktion während der Behandlung gefunden haben, doch scheinen sie diesem Phänomen keine weitere Beachtung beigelegt zu haben. Solche Schwankungen erwähnen bereits Hoffmann („negative Phase"), Blumenthal und Roscher, und auch Boas gibt Anhaltspunkte dafür, daß ein Negativwerden der sicher positiven Reaktion im Laufe der Behandlung

1) Schon vor Weidanz hat R. Müller ein Verfahren angegeben, nach welchem sich die Serodiagnostik der Lues vereinfachen läßt. Auch hier wird mit kleinsten Blut- bezw. Serummengen gearbeitet, doch werden die zur Untersuchung nötigen Mengen nicht abgemessen, sondern in Tropfen gezählt. Vorausgesetzt, daß stets gleiche Pipetten genommen werden, wird natürlich auch dieses Verfahren in der Praxis gute Verwendung finden können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorkommen könne, und daß eine am Ende einer Kur negative Reaktion früher wieder positiv werde, als man bisher angenommen habe. Pürkhauer, dessen Resultate sich ziemlich mit denen von Blumenthal und Roscher decken, fand ebenfalls in einzelnen Fällen schon nach wenigen (3) Injektionen von Hydrarg. salicyl., Kalomel oder Atoxyl eine negative Reaktion, die nicht mit dem Krankheitsbilde oder der Höhe der Hg- bezw. Arsendosen in Beziehung zu bringen war.

In der sich meinem Vortrage anschließenden Diskussion erklärte Blaschko ebenfalls solche Schwankungen während der Behandlung eines Syphilitikers gefunden zu haben. Bruck dagegen erwähnt in jüngster Zeit, daß er und andere Autoren die von mir aufgestellte Behauptung, daß die Reaktion bei fortlaufenden Untersuchungen zuweilen ganz regellos hin und her schwanke, nicht bestätigen könne.

Nach jenen eben angeführten Mitteilungen aus der Literatur ist aber doch ersichtlich, daß ein derartiges Schwanken der Reaktion tatsächlich auch von anderen Autoren beobachtet wurde. Exakte systematische Untersuchungen, auch solche, die das Gegenteil meiner Behauptungen beweisen, fehlen meines Wissens bis jetzt noch, bezw. sind bis heute noch nicht veröffentlicht worden.

Ich halte es aber für unbedingt erforderlich, daß eingehende Nachuntersuchungen nach dieser Richtung hin von Forschern, die über ein großes Krankenmaterial verfügen, angestellt werden, da solche Untersuchungen zur Lösung mancher theoretisch wie praktisch wichtigen Fragen geeignet zu sein scheinen.

Ich möchte zunächst in Kürze hier die Technik meiner Untersuchungen angeben. Nach meinen Erfahrungen eignet sich die ursprüngliche Weidanzsche Technik der Untersuchung kleinster Blutmengen nach Wassermann für die Praxis nicht. Dagegen vereinfacht sich diese Methode außerordentlich, wenn man wenigstens 0,05 ccm Serum zur Untersuchung vor sich hat. Diese Menge Serum gewinnt man aber mühelos aus 8—10 großen Tropfen Blut. Wenn man nämlich dann dieses Serum vorschriftsmäßig verdünnt, so erhält man 0,25 ccm Untersuchungsflüssigkeit, von der man bei einiger Uebung im Pipettieren mit den gewöhnlichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1 ccm Pipetten je 0,1 ccm für die Reaktion selbst und für die nötige Serumkontrolle abnehmen kann. Setzt man nun von den in demselben Verhältnis, wie bei der ursprünglichen Wassermannschen Methode (mit 0,2 ccm Serum) gemischten Komponenten ebenfalls je 0,1 ccm zu, so hat man am Ende der Reaktion 0,4 bezw. 0,5 ccm Flüssigkeit in einem Röhrchen. Mit diesen Mengen kann man aber die ganze Reaktion wie die Verdünnungen selbst in den sehr handlichen Uhlenhuthschen Röhrchen ausführen. Man muß natürlich darauf achten, daß diese geringen Flüssigkeitsmengen nicht an der Wand der Röhrchen hängen bleiben, sondern sich gut mit einander mischen. Bei einiger Uebung und Vorsicht gelingt dies leicht [1]).

Die Blutentnahme gestaltet sich äußerst einfach, wenn man etwa in der Mitte des Ohrläppchens oder in die Fingerbeere am besten mittels der von Kirstein angegebenen Blutlanzette einen Einstich macht und das in Tropfen herausquellende Blut mit dem Wattebausch eines Czaplewskischen Röhrchens auffängt. Das Gläschen wird dann wieder verschlossen, eventuell (für den Versand) noch mit Paraffin oder Siegellack umgeben und einige Zeit liegen lassen. Dann kann man durch längeres Zentrifugieren leicht das Serum gewinnen und mit einer Kapillare abpipettieren. Das erhaltene Serum wird im richtigen Verhältnis verdünnt (gewöhnlich 1 : 5) inaktiviert.

Man kann übrigens auch die hier nötigen geringen Mengen Serum mittels Kapillaren nach dem Wrightschen Verfahren gewinnen.

Im folgenden seien die ausführlichen Protokolle meiner damaligen Untersuchungen über die Einwirkung einer spezifischen Kur auf den Ausfall der Reaktion, die ich aus äußeren Gründen nicht weiter fortsetzen konnte, mitgeteilt. Um mich im folgenden kürzer fassen zu können, möchte ich die von mir modifizierte und praktisch verwendete Weidanzsche Methode die „Mittlere" (mit 0,05 ccm Serum) nennen im Gegensatz zur „Großen" (mit 0,2 ccm Serum) ursprünglichen Wassermannschen Technik.

Drei Patientinnen mit leichten sekundär-luetischen Erscheinungen, aber stark positiver Wassermann-Reaktion wurden mit Injektionen von Hydrargyrum salicylicum in üblicher

1) Die von Blumenthal vor kurzer Zeit mitgeteilte Modifikation des Weidanzschen Verfahrens (Derm. Zeitschr., Bd. 17, 1910, H. 1 u. 2) entspricht vorstehender, von mir bereits im Juli 1909 angegebenen Technik.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dosierung im Krankenhaus (Großlichterfelde West, Direktor Prof. Brandenburg) behandelt. Jeden 6. Tag etwa wurde eine Injektion gegeben und mindestens zweimal wöchentlich das Blut, oft mit der Großen (Gr.M.) und der mittleren (M.M.) gleichzeitig entnommen, untersucht.

1. Fall: E., Marie, Dienstmädchen, 19 Jahre. Mittelgroßes, kräftiges Mädchen. Erosion chancreuse der Portio (+ Spir.). Indolente Leistendrüsen, beginnende Roseola.

Diagnose: Lues II.

1. Untersuchung 12. I. 09 (vor der Behandlung): positiv (Gr.M. u. MM.).
   1. Injektion 23. I. 09.
2. Untersuchung 25. I. 09 (status idem): negativ (M.M.).
   2. Injektion 28. I. 09.
3. Untersuchung 28. I. 09 (Roseola deutlicher): positiv (M.M.).
   3. Injektion 2. II. 09.
4. Untersuchung 5. II. 09 (starke Roseola): negativ (Gr.M. u. M.M.).
   4. Injektion 7. II. 09.
5. Untersuchung 11. II. 09 (status idem): Plaques muceuses der Mundschleimhaut; positiv (M.M.).
   5. Injektion 12. II. 09.
6. Untersuchung 15. II. 09 (Roseola verschwunden): positiv (M.M. u. Gr.M.).
   6. Injektion 17. II. 09.
7. Untersuchung 20. II. 09 (Plaques noch deutlich): negativ (M.M.).
   7. Injektion 22. II. 09.
8. Untersuchung (Plaques fast verheilt) leichte Stomatitis: positiv (M.M.).
9. Untersuchung (nur noch Stomatitis): negativ (M.M.).
   8. Injektion 27. II. 09.
10. Untersuchung 1. III. 09 (keine Krankheitserscheinungen): negativ (M.M.).
11. Untersuchung 5. III. 09 (status idem): positiv (Gr.M. u. M.M.). Patientin auf Wunsch entlassen.

2. Fall. A., Minna, 25 Jahre, Dienstmädchen. Großes kräftiges Mädchen. Makulöses Exanthem auf Stamm und Extremitäten; Skleradenitis; am rechten Lab. maj. stark gerötete Erosion (+ Spir.).

Diagnose: Lues II.

1. Untersuchung 29. I. 09 (unbehandelt): positiv (Gr.M. u. M.M.).
   1. Injektion 1. II. 09.
2. Untersuchung 2. II. 09 (Exanthem abgeblaßt): positiv (M.M.).
   2. Injektion 6. 2. 09.
3. Untersuchung 9. I. 09 (Exanthem verschwunden): negativ (M.M.).
   3. Injektion 11. II. 09.
4. Untersuchung 11. II. 09 (starke spez. Angina): positiv (M.M.).
5. Untersuchung 15. II. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   4. Injektion 17. II. 09.
6. Untersuchung 19. II. 09 (Angina abgeheilt): negativ (Gr.M. u. M.M.).
   5. Injektion 22. II. 09.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7. Untersuchung 23. II. 09 (keine spez. Erscheinungen, Stomatitis mercur.): positiv (M.M.).
   6. Injektion 24. II. 09.
8. Untersuchung 25. II. 09 (stat. idem): negativ (M.M.).
9. Untersuchung 1. III. 09 (keine krankhaften Erscheinungen): negativ (M.M.).
   7. Injektion 4. III. 09.
10. Untersuchung 8. III. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   8. Injektion 10. III. 09; 9. Injektion 15. III. 09.
11. Untersuchung 18. III. 09 (starke, nicht spez. Angina; Temperatur 38,5): negativ (M.M.).
   10. Injektion 18. III. 09.
12. Untersuchung 20. III. 09 (Angina abgeheilt): positiv (Gr.M. u. M.M.). Patientin geheilt entlassen.

3. Fall: Kr., Auguste, 22 Jahre, Aufwärterin, schlankes, blasses Mädchen. Roseola; Erosion chancreuse (+ Spir.) an der Vulva. Indolente Leistendrüsen links.

1. Untersuchung 27. I. 09 (vor der Behandlung): positiv (Gr.M. u. M.M.).
2. Untersuchung 1. II. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   1. Injektion 3. II. 09.
3. Untersuchung 5. II. 09 (stat. idem, Angina spez.): positiv (M.M.).
   2. Injektion 8. II. 09.
4. Untersuchung 10. II. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   3. Injektion 13. II. 09.
5. Untersuchung 15. II. 09 (Roseola abgeblaßt): positiv (M.M.).
   4. Injektion 17. II. 09.
6. Untersuchung 19. II. 09 (Roseola fast geschwunden): negativ (M.M.).
   5. Injektion 21. II. 09.
7. Untersuchung 23. II. 09 (keinerlei krankhafte Erscheinungen: positiv (M.M.).
   6. Injektion 25. II. 09.
8. Untersuchung 26. II. 09 (stat. idem): negativ (Gr.M. u. M.M.).
   7. Injektion 1. III. 90.
9. Untersuchung 3. III. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   8. Injektion 7. III. 09.
10. Untersuchung 8. III. 09 (stat. idem): negativ (M.M.).
   9. Injektion 12. III. 09.
11. Untersuchung 18. III. 09 (stat. idem): positiv (Gr.M. u. M.M.). Patientin auf Wunsch entlassen.

Schon nach der ersten Injektion gab also bei der einen Patientin die 48 Stunden später vorgenommene Blutprobe eine vollkommen negative Reaktion. Bei den beiden anderen Patientinnen trat dies erst nach der zweiten, bezw. dritten Injektion auf. In allen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

drei Fällen jedoch zeigte die darauffolgende Blutuntersuchung, 1—2 Tage nach der Injektion, einen positiven Ausfall. So wechselten bei diesen drei Patientinnen während der ersten Kur negatives und positives Resultat der Wassermannschen Reaktion ab, bis gegen Ende der Kuren. Obwohl hier bei allen drei Patientinnen, bei der einen sogar zweimal hintereinander, ein negatives Resultat vorhanden war, ergaben doch die Schlußuntersuchungen nach der 9.—11. Injektion bei dieser und den beiden anderen Patientinnen einen positiven Ausfall der Reaktion.

Die Schwankungen vom positiven zum negativen Ausfall der Reaktion[1]) traten auch bei drei anderen Patienten mit sekundärer Lues auf, jedoch bei zweien davon erst sehr spät, gegen Ende der Kur. Es handelte sich hier um schwerere luetische Krankheitserscheinungen. Doch auch da wurde die während der Kur öfters und auch am Ende negative Reaktion nach ein bis zwei Tagen wieder positiv.

4. Fall: Gr., Julius, 27 Jahre, Ingenieur. Anfang Mai 1908 Luesinfektion. P. A. im Sulcus coronarius. Keine Roseola. Nur hier und da Kopfschmerzen.

Stat. praes.: An den Tonsillen und am Munde Plaques muceuses, Papeln ad Genitale. Lues II.

1. Untersuchung 1. II. 09 (ohne Behandlung): positiv (Gr.M.).
   1. Injektion 2. II. 09; 2. Injektion 6. II. 09.
2. Untersuchung 8. II. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   3. Injektion 10. II. 09.
3. Untersuchung 11. II. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
   4. Injektion 16. II. 09.
4. Untersuchung 17. II. 09 (Papeln im Mund fast gänzlich abgeheilt): positiv (M.M.).
   5. Injektion 21. II. 09.
5. Untersuchung 24. II. 09 (ebenso Papeln am Genitale): negativ (M.M.).
   6. Injektion 28. II. 09.
6. Untersuchung 2. III. 09 (stat. idem): positiv (Gr.M. u. M.M.).
   7. Injektion 5. III. 09.

---

1) Es handelt sich also, wie aus den vorhergehenden und folgenden Protokollen klar ersichtlich ist, nicht nur, wie Blumenthal (ibidem) meint, um Intensitätsschwankungen, sondern um ein vollkommenes Umschlagen des positiven zum negativen Ausfall.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7. Untersuchung 7. III. 09 (keine Krankheitserscheinungen): negativ (M.M.).
8. Injektion 10. III. 09.
8. Untersuchung 11. III. 09 (o. B.): positiv (M.M.).
9. Injektion 15. III. 09.
9. Untersuchung 18. III. 09 (o. B.): negativ (M.M.).
10. Untersuchung 24. III. 09 (o. B.): positiv (Gr.M. u. M.M.).

5. Fall: Sp., Johanna, 30 Jahre, Dienstmädchen. 1907 Luesinfektion. Januar 1909 rote Flecken am Körper, Schmierkur. Febr. 1909 Condylomata lata.

Stat.: Bauch und Brust sind von einem makulopapulösen Exanthem bedeckt. Condylomata lata ad genitale. Multiple Drüsenschwellungen. Lues II.

1. Untersuchung 28. II. 09 (unbehandelt): positiv (Gr.M.).
1. Injektion 1. III. 09; 2. Injektion 5. III. 09.
2. Untersuchung 8. III. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
3. Injektion 8. III. 09.
3. Untersuchung 11. III. 09 (Exanthem etwas abgeblaßt): positiv (M.M.).
4. Injektion 13. III. 09
4. Untersuchung 15. III. 09 (stat. idem): positiv (Gr.M. u. M.M.).
5. Injektion 16. III. 09.
5. Untersuchung 17. III. 09 (Exanthem uns noch schwer sichtbar): positiv (M.M.).
6. Injektion 19. III. 09.
6. Untersuchung 21. III. 09 (Exanthem geschwunden, desgleichen fast vollkommen die Papeln): positiv (M.M.).
7. Injektion 23. III. 09.
7. Untersuchung 25. III. 09 (keine krankhaften Erscheinungen): positiv (M.M.).
8. Injektion 27. III. 09.
8. Untersuchung 29. III. 09 (stat. idem): negativ (Gr.M. u. M.M.).
9. Injektion 30. III. 09.
9. Untersuchung 3. IV. 09 (stat. idem): positiv (M.M.).
10. Untersuchung 7. IV. 09 (stat. idem): positiv (Gr.M. u. M.M.).

6. Fall. N., Wanda, 19 Jahre, Hausmädchen. Chancre mixte an der hinteren Commissur. Roseola; Plaques auf den Tonsillen und der hinteren Rachenwand. Lues II.

1. Untersuchung 19. II. 09 (unbehandelt): positiv (Gr.M. u. M.M.).
1. Injektion 19. II. 09; 2. Injektion 23. II. 09.
2. Untersuchung 24. II. 09 (stat. id.): positiv (M.M.).
3. Injektion 26. II. 09; 4. Injektion 1. III. 09.
3. Untersuchung 3. III. 09 (Exanthem etwas abgeblaßt): positiv (M.M.).
5. Injektion 7. III. 09.
4. Untersuchung 8. III. 09 (Exanthem fast geschwunden, desgleichen Mundaffektion): positiv (M.M.).
6. Injektion 11. III. 09.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5. Untersuchung 13. III. 09 (Munderscheinungen noch deutlich): positiv (Gr.M. u. M.M.).
7. Injektion 16. III. 09; 8. Injektion 23. III. 09.
6. Untersuchung 25. III. 09 (Exanthem geschwunden: Mund noch schwach sichtbar): negativ (M.M.).
9. Injektion 26. III. 09.
7. Untersuchung 28. III. 09 (keine krankhaften Erscheinungen): positiv (M.M.).
Pat. auf Wunsch entlassen.

Zwei Patienten mit positiver Wassermannscher Reaktion, bei denen die Infektion 20, bezw. 10 Jahre zurücklag, unterzogen sich, der eine wegen leichter tabischer Erscheinungen, der andere aus prophylaktischen Gründen einer Schmierkur.

7. Fall. Fr., Johannes, 39 Jahre, Gerichtssekretär. Luesinfektion vor 20 Jahren, 5 Kuren, die letzte im Juli 1908 (im voraufgehenden Jahre hat Pat. zwei Schlaganfälle erlitten).

Nach der letzten Kur (August 1908) war die Reaktion negativ.

Stat. praes.: stark anämischer, schwächlicher Mensch. Außer Chancrenarbe im Sulcus coronarius kein Zeichen von Lues. Potator.

Reflekt. Pupillenstarre; stark erhöhte Patellarreflexe; leicht positiver Rhomberg.

Diagnose: Tabes incipiens.

1. Untersuchung 15. I. 09 (unbehandelt): positiv (Gr.M. u. M.M.).
12 Einreibungen à 4 g
2. Untersuchung 3. II. 09 (Allgemeinbefund gut): negativ (M.M.).
21 Einreibungen à 4 g
3. Untersuchung 11. II. 09 (stat. id.): positiv (M.M.).
27 Einreibungen
4. Untersuchung 18. II. 09 (leichtes Kribbeln im linken Arm): negativ (M.M.).
33 Einreibungen
5. Untersuchung 26. II. 09 (o. B.): negativ (Gr.M. u. M.M.).
Kur beendet. Allgemeinbefinden gut.
6. Untersuchung 8. III. 09 OB: positiv (Gr.M. u. M.M.).

8. Fall. H., Johannes, 38 Jahre, Oberzollsekretär. Luesinfektion Dez. 1901, 2—3 Kuren. Die letzte vor 2 Jahren.

Keinerlei Zeichen von Lues.

Stat. praes.: Großer kräftiger und gesunder Mann. Nervensystem ohne Besonderheiten. Neurasthenie.

1. Blutuntersuchung 21. I. 09: positiv (Gr.M.). Auf Wunsch Inunktionskur.
2. Blutuntersuchung 3. II. 09: positiv (M.M.). Allgemeinbefinden gut.
8 Einreibungen à 4 g = 32 g Hg.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Blutuntersuchung 11. II. 09: positiv (M.M.).
Stat. id. 15 Einreibungen à 4 g = 60 g Hg.
4. Blutuntersuchung 18. II. 09: schwankend (M.M.).
Stat. id. 21 Einreibungen à 4 g = 84 g Hg.
5. Blutuntersuchung 26. II. 09: schwankend (M.M.).
Stat. id. 28 Einreibungen à 4 g = 112 g Hg.
6. Blutuntersuchung 11. III. 09: negativ (M.M.).
Leichte Stomatitis. 36 Einreibungen à 4 g = 144 g Hg.
Kur beendet.
7. Blutuntersuchung 14. III. 09: positiv!! (M.M.).
8. Blutuntersuchung 15. III. 09: positiv (Gr.M.).
Trotz der leichten Stomatitis noch einige Sublimatspritzen proponiert.
1. Spritze am 16. III. 09.
9. Blutuntersuchung 19. III. 09: positiv (M.M.).
2. Doppelspritze.
10. Blutuntersuchung 21. III. 09: positiv (M.M.).
3. Dopdelspritze.
11. Blutuntersuchung 26. III. 09: positiv (M.M.).
4. Doppelspritze.
12. Blutuntersuchung 1. IV. 09: positiv (M.M.).
5. Doppelspritze.
13. Blutuntersuchung 5. IV. 09: positiv (M.M.),

Bei dem ersten Patienten wurde also die Reaktion bereits nach 12 Einreibungen à 4 g völlig negativ, während sie nach 21 Einreibungen wieder positiv, dann nach 27 wieder negativ ausfiel. Sie blieb dann negativ bis zum Ende der Kur von 33 Einreibungen à 4 g. Zehn Tage nach der letzten Inunktion war die Reaktion wieder positiv. Bei dem anderen Patienten wurde die Reaktion erst nach 21 Einreibungen schwach positiv, und nach 26 Einreibungen à 4 g negativ. Aber bereits nach 48 Stunden fiel die Reaktion wieder positiv aus und blieb es trotz weiteren 5 Sublimatdoppelinjektionen.

Ein weiterer Fall von sekundärer Lues mit Spätrezidiv an den Hand- und Fußflächen (Psoriasis palmaris und plantaris) reagierte sehr wenig auf Quecksilber. Die wiederholt ausgeführte Blutuntersuchung war während dreier früherer Kuren niemals negativ ausgefallen. Da sich jetzt das Krankheitsbild und die positive Reaktion während 8 Salicylquecksilberinjektionen nicht änderte, erhielt der Patient jeden 2. Tag eine Injektion von 0,2 g Atoxyl. Nach 7 Injektionen waren Hände und Füße vollkommen abgeheilt und die jetzt wieder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorgenommene Blutuntersuchung fiel negativ aus. Nach zwei weiteren Injektionen wurde die Behandlung aus äußeren Gründen abgebrochen. Es bestanden keinerlei krankhafte Symptome; die Reaktion dagegen war wieder positiv geworden.

Bei allen diesen Patienten entsprach das jeweilige Krankheitsbild und der Verlauf nicht dem Ausfall der Reaktion. Ueber die Ursache dieser scheinbar regellosen Schwankungen [1]) des Ausfalles der Reaktion während der Behandlung können vielleicht, wie schon hervorgehoben, zahlreiche nach dieser Richtung hin vorzunehmende Untersuchungen Aufschluß geben.

Jedenfalls aber ist ein Einfluß des Quecksilbers und wahrscheinlich auch des Atoxyls auf den Einfluß der Wassermannschen Luesreaktion vorhanden. Denn derartige Schwankungen kommen bei unbehandelter Lues scheinbar nicht vor. Ich habe bei einer Patientin mit sekundärer noch unbehandelter Lues das Blut 2 Wochen lang jeden Tag serologisch untersucht. Die Reaktion blieb positiv bis zum Beginne der Behandlung. Nach drei Injektionen erst änderte sich die Stärke des Ausfalles etwas. Leider schied die Patientin aus der Behandlung aus.

Was geht nun aus diesen Untersuchungen für die Praxis wichtiges hervor? Die Resultate meiner Untersuchungen mahnen in gewissen Beziehungen zu größter Vorsicht bei der Verwertung des Ausfalls der Wassermannschen Reaktion.

Die Hoffnung, in der Stärke des Ausfalls der Reaktion einen Indikator für den Erfolg einer Kur zu besitzen (Blaschko, Fr. Lesser u. a.), hat man bald aufgeben müssen. Fast alle, die sich mit der Serodiagnose der Syphilis beschäftigen, lassen deshalb mit Recht alle Zwischenstufen weg und sprechen nur von einem positiven oder negativen Ausfall dieser Reaktion.

Eben diese Autoren und andere mehr verlangen von einer exakten Kur, daß sie in der Regel einen am Beginn derselben positiven Ausfall der Reaktion in einen negativen umwandeln müsse. Wäre dies nach einer regulären Kur von üblicher Stärke und Dauer noch nicht erreicht, so müsse man eben

1) Es handelt sich hier, wie aus den Protokollen hervorgeht, nicht nur um „Intensitätsschwankungen" (Blumenthal), sondern um ein vollkommenes Umschlagen der positiven Reaktion in die negative und umgekehrt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so lange unter ständiger Kontrolle mittels der Wassermannschen Reaktion in dieser spezifischen Behandlung fortfahren, bis endlich die Reaktion einmal negativ geworden.

Einige der vorliegenden Untersuchungen zeigen nun aber deutlich, daß eine solche, vielleicht mühsam, nach langer Behandlungsdauer erzielte negative Reaktion nach kürzester Zeit, ja nach 48 Stunden schon, wieder zweifellos positiv ausfallen kann. Sie zeigen ferner, daß man einen negativen Reaktionsausfall aber auch schon lange vor dem eigentlichen Endtermin der Behandlung erhalten kann, man braucht nur zufällig einmal die Blutuntersuchung während einer von Hoffmann so treffend genannten „negativen Phase" vorzunehmen. Mit anderen Worten:

„Der Ausfall der Reaktion darf nicht etwa schematisch, ohne Berücksichtigung des vorliegenden Krankheitsbildes, verwertet werden. Der negative Ausfall, der schon kaum nach Beginn der Behandlung eintreten kann, darf die Kur nicht beendigen lassen. Inwieweit der positive Ausfall am Ende einer Kur zum Fortfahren in der spezifischen Behandlung über das gewöhnliche Maß hinaus Veranlassung geben darf, müßte wohl erst weiter untersucht werden".

Die Tatsache, daß während einer spezifischen Behandlung öfters Schwankungen im Ausfall der Reaktion auftreten können, lehrt uns aber weiter, die zu diagnostischen Zwecken vorzunehmende Blutuntersuchung nicht während oder unmittelbar nach einer Kur anzustellen. Ob man, wie Citron fordert, 3 Wochen warten muß oder noch länger, das müßte wohl erst durch einschlägige Untersuchungen festgestellt werden.

Wenn auch nach den statistischen Erhebungen und Zusammenstellungen ungenügend behandelte Fälle vielleicht mehr positive Reaktionen aufweisen wie solche, die gut behandelt sind, bezw. eine Anzahl von Kuren durchgemacht haben, die allgemein als genügend bezeichnet wird, so glaube ich doch, daß man nach dem heutigen Stande der Wissenschaft nicht berechtigt ist, jeden positiv reagierenden Patienten ohne

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weiteres wieder einer Kur zu unterziehen. Erst eine genaue Anamnese bezüglich der Infektion, der bisherigen Therapie (Anzahl der Kuren) und der gegenwärtige klinische Befund werden die eventuelle Notwendigkeit einer Kur ergeben. Auch erscheinen mir Behauptungen, wie sie in jüngster Zeit ausgesprochen worden sind, daß „über jedem Syphilitiker mit positiver Reaktion das Damoklesschwert der Tabes oder der Paralyse schwebe", zum mindesten verfrüht. Um derartige prognostische und therapeutische Fragen zu lösen, reichen unsere Erfahrungen noch lange nicht aus, insbesondere aber ist die Zeit der Beobachtung aller serologisch untersuchten Fälle noch viel zu gering.

Besonders erleichtert diese angegebene Modifikation der Weidanzschen Technik die Untersuchung luetischer oder luesverdächtiger Kinder bezw. deren Mütter. Darüber werde ich in nächster Zeit gemeinsam mit W. Michaelis berichten.

Zusammenfassung.

1) Das Postulat, den Ausfall der Wassermannschen Seroreaktion als Kontrolle für die genügend lange Dauer einer spezifischen Kur zu verwerten, kann nicht aufrecht erhalten werden. Da sie während oder unmittelbar nach Beendigung einer Kur wiederholt vollkommen umschlagen kann, so kann weder die positive Reaktion zum Fortfahren, noch die negative allein zum Beendigen einer Kur berechtigen.

2) Eine zu diagnostischen Zwecken vorzunehmende Wassermannsche Blutuntersuchung darf aus eben denselben Gründen nicht während oder unmittelbar nach einer spezifischen Kur vorgenommen werden.

3) Diagnostisch, bezw. differentialdiagnostisch leistet die ursprüngliche Wassermannsche Reaktion ebenso wie ihre Modifikation mit kleinen (0,03—0,05 ccm) Serummengen bei gewissenhafter Technik gleich gutes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien.
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Ein Beitrag zur Kenntnis der Avidität der Agglutinine.

Von Dr. **M. von Eisler** und Dr. **M. Laub.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Februar 1910.)

Die Avidität eines Serums ist zwar der experimentellen Prüfung zugänglich, welche Beschaffenheit der Antikörper aber den Grad ihrer Avidität bedingt, entzieht sich noch völlig unserer Kenntnis, was bei dem derzeitigen Stande unseres Wissens über die Natur der Antikörper überhaupt ganz natürlich ist. Für gewöhnlich sind wir ja darauf angewiesen, aus gewissen experimentell erforschten Phänomenen auf die betreffenden Antikörper zu schließen, die einer direkten Beobachtung nicht zugänglich sind. Unter solchen Verhältnissen dürfte schon das Studium derartiger Prozesse, die imstande sind, die physikalisch-chemische Beschaffenheit und dadurch verschiedene Funktionen des Serums zu beeinflußen, bezüglich ihres Verhaltens zur Avidität von Nutzen sein. Bisher ist es bloß bekannt, daß Antitoxine sowohl im Tierkörper als auch bei Aufbewahrung in vitro an Avidität verlieren können, wie zuerst von Kraus für das Antitoxin des V. Nasik nachgewiesen worden ist, und man wird wohl in der Annahme nicht fehlgehen, daß die dabei vor sich gehenden Veränderungen des Kolloidzustandes der betreffenden Körper — wobei allerdings an Veränderungen in weitestem Sinne gedacht werden muß, da sowohl die Entstehung neuer als auch die Sprengung bestehender Verbindungen und alle damit im Zusammenhange stehenden Schwankungen der Löslichkeitsverhältnisse, der elektrischen Ladung, der Oberflächenspannung etc. in Betracht gezogen werden müssen — für die Aviditätverluste verantwortlich zu machen seien. Auf Grund solcher Ueberlegungen lag es nahe, den Einfluß des Erhitzens und der Aetherextraktion auf die Avidität einer experimentellen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Prüfung zu unterziehen. Unsere Untersuchungen beziehen sich ausschließlich auf Agglutinine und zwar sowohl in Normal- als auch in Immunseris.

Bevor wir auf diese Versuche näher eingehen, sollen zuvor noch die Aviditätsverhältnisse nicht vorbehandelter normaler Sera in Hinblick auf unsere Versuche erörtert werden. Durch die Untersuchungen von P. Th. Müller wurde der wichtige Befund erhoben, daß in einem Immunserum gleichzeitig Antikörper verschiedener Avidität vorhanden sind. Nach Ansicht Müllers sind dafür zweierlei Umstände maßgebend. Erstens werden im Laufe der Immunisierung Antikörper mit steigender Avidität gebildet, so daß neben den bereits im Beginne des Immunisierungsprozesses vorhandenen wenig aviden Agglutininen, später solche mit höherer Avidität ins Serum abgestoßen werden und zweitens findet im Tierkörper eine Aviditätsabschwächung der im Blute kreisenden Antikörper statt. Wir haben nun untersucht, wie sich die normalen Agglutinine des Rinderserums bezüglich ihrer Avidität verhalten.

I. Normalsera.

a) Avidität unveränderter Sera.

Frische Rindersera wurden 25 Minuten lang auf 56° C erhitzt und hierauf gegen je 0,5 ccm dreimal gewaschenen 5-proz. Kaninchenblutes ausgewertet. Diejenige Serummenge, welche nach einstündigem Aufenthalt des Röhrchens bei 36° C kräftige Agglutination bewirkt hatte, wurde als eine Agglutinationseinheit angenommen. Zur Prüfung der Avidität haben wir eine abgemessene Zahl von Agglutinationseinheiten eines Serums mit der gleichen Menge Blut zweimal hintereinander versetzt und jedesmal den Absorptionskoeffizienten sowie die Zahl der abgespaltenen Agglutinationseinheiten bestimmt. Diese Methode hat auch Müller in seinen Untersuchungen benutzt, und damit festgestellt, daß der zweite Absorptionskoeffizient in seinem Werte hinter dem ersten relativ zurückblieb. Auf diese Weise gelangte er eben zur Annahme verschieden avider Agglutinine in demselben Immunserum. Bei der ersten Absorption werden die avideren Antikörper ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bunden und man erhält einen hohen Absorptionskoeffizienten. Die nun übrig bleibenden Agglutinine besitzen nur mehr geringere Avidität und die zweite Absorption liefert daher auch einen wesentlich niedrigeren Koeffizienten. Unsere diesbezüglichen Versuche gestalten sich folgendermaßen: Abgemessene Mengen Rinderserum wurden mit je 0,5 ccm gewaschenen Kaninchenblutes versetzt, und zwar wurden immer drei in der gleichen Weise beschickte Röhrchen aufgestellt und diese behufs Bindung 2 Stunden lang bei 22° C gehalten. Dann wurden die Blutkörperchen scharf abzentrifugiert und vom Sedimente abgegossen. Die Abgüsse der drei Röhrchen wurden nach Auswertung ihres Agglutiningehaltes vereinigt, so daß auf diese Weise berechnet werden konnte, wie viel von den dargebotenen Agglutinationseinheiten von je 0,5 ccm Blut gebunden worden war. Ferner wurde ein Blutkörperchensediment in einer abgemessenen 0,9-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, gut durchgeschüttelt und ½ Stunde bei 45° C digeriert. Dann wurden die Blutkörperchen wieder scharf abzentrifugiert und die abgegossene klare Flüssigkeit bezüglich ihres Agglutiningehaltes ausgewertet. So konnten wir bestimmen, wie viel von den gebundenen Agglutinationseinheiten wieder abgespalten worden war. Nun wurde der Versuch unter genau denselben Bedingungen wiederholt. Da wir bei der ersten Absorption drei in der gleichen Weise beschickte Röhrchen aufgestellt hatten, hatten wir nach Vereinigung der drei Abgüsse selbst bei einer beträchtlichen Bindung noch genügend Agglutinin zur Verfügung, um bei der zweiten Absorption dieselbe Anzahl Agglutinationseinheiten wie das erste Mal zu verwenden. Es wurde also von den Abgüssen soviel zu 0,5 ccm Kaninchenblut zugesetzt, daß die Anzahl der dargebotenen Agglutinationseinheiten gleich der bei der ersten Absorption verwendeten war; sonst wurde genau in der gleichen Weise wie das erste Mal vorgegangen. Zur Bestimmung der abgespaltenen Agglutininmenge wurde das Sediment wieder in derselben Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt und digeriert.

Das Ergebnis mehrerer derartiger Versuche ist aus Tabelle I ohne weiteres zu ersehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Rindersera	Agglutinationseinheit des nativen Serums	Anzahl der Agglutinationseinheiten	I. Absorptionskoeffizient	Agglutinationseinheit des vorbehandelten Serums	II. Absorptionskoeffizient	Abgespalten im	
						nativen Serum	vorbehandelten Serum
7	0,02	150	0,56	0,1	0,52	6	6
8	0,04	120	0,58	0,2	0,5	5	5
9	0,02	150	0,6	0,3	0,66	8—10	ca. 8
12	0,03	130	0,54	0,2	0,5	5	5

Bei der oben beschriebenen Versuchsanordnung hätten Unterschiede in der Avidität der Agglutinine zum Vorschein kommen müssen, in der Weise, daß die zweite Adsorption einen kleineren Koeffizienten hätte liefern müssen als die erste, da ja die weniger aviden Agglutinine zurückgeblieben wären. Ebenso hätte sich ein Unterschied im Verhältnis der abgespaltenen Agglutinationseinheiten zeigen müssen. Unsere Versuche haben aber für die erste und zweite Absorption gleiche Werte ergeben, so daß man daher für die Agglutinine des normalen Serums gleiche Avidität annehmen muß.

Aber auch auf einem anderen Wege sind wir zu diesem Schlusse gelangt. Landsteiner und Reich konnten zeigen, daß die Agglutinine der normalen Sera beträchtlich leichter von Kasein aufgenommen werden als die Agglutinine der Immunsera. Wir haben normale Rindersera mit Kasein versetzt, und die nach dieser Vorbehandlung im Serum zurückbleibenden Agglutinine in ihrer Avidität verglichen mit den Agglutininen des nativen Serums. Zu den betreffenden Versuchen wurde das normale Rinderserum zu gleichen Teilen mit 0,9-proz. Kochsalzlösung verdünnt und zu je 5 ccm dieser Verdünnung 0,5—1,0 g entfettetes Kasein zugefügt. Das Gemisch wurde unter öfterem Schütteln eine Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, dann das Serum durch Zentrifugieren und Filtrieren durch Papier vom Kasein befreit.

Das derartig vorbehandelte Serum wurde nun gleichzeitig mit einer nicht vorbehandelten Portion desselben Serums wieder auf seinen Agglutiningehalt gegen Kaninchenblut ausgewertet.

Zur Bestimmung der Avidität wurde die gleiche Anzahl Agglutinationseinheiten des nicht vorbehandelten und des mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kasein versetzten Serums durch Auffüllen mit Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen gebracht. Beide Röhrchen wurden mit je 0,5 ccm des 5-proz. Kaninchenblutes versetzt und 2—3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde wieder von beiden Proben die von dem Blutkörperchensedimente abgegossene, sowie die nach der Digestion des Sedimentes erhaltene Flüssigkeit auf ihren Agglutiningehalt geprüft. In Tabelle II ist eine Reihe derartiger Versuche zusammengestellt.

Tabelle II.

Rindersera	Agglutinationseinheit des		Zahl der Agglutinationseinheiten	Adsorptionskoeffizient des		Abgespalten im	
	nativen Serums	mit Kasein vorbehandelten Ser.		nativen Serums	mit Kasein vorbehandelten Ser.	nativen Serums	mit Kasein vorbehandelten Ser.
1	0,05	0,1	40	0,53	0,53	2	2
2	0,05	0,2	50	0,18	0,18	4	4
3	0,05	0,2	45	0,58	0,58	2	2
4	0,01	0,08	300	0,18	0,18	10	10

Diese Versuche zeigen in Uebereinstimmung zu den von Landsteiner und Reich (2) gemachten Beobachtungen eine beträchtliche Abnahme des Agglutiningehaltes der mit Kasein vorbehandelten normalen Sera. Die nach dem Versetzen mit Kasein übrig bleibenden Agglutinine waren aber in ihrer Avidität ganz gleich denen des nicht vorbehandelten Serums. Aus dem Ausfall dieser Versuche ist wohl ebenfalls der Schluß gestattet, daß die Avidität der normalen Agglutinine gleich ist. Denn wären in den betreffenden Seris Agglutinine verschiedener Avidität vorhanden gewesen, so hätten sich voraussichtlich Aviditätsunterschiede nach dem Versetzen mit Kasein gezeigt, möglicherweise in dem Sinne, daß die nach der Kaseinbehandlung zurückbleibenden Agglutinine eine höhere Avidität besäßen als die des Vollserums. Werden doch nach den oben erwähnten Versuchen von Landsteiner und Reich die Agglutinine des Normalserums bedeutend leichter von Kasein gebunden als die des Immunserums. Da nun die Agglutinine des Immunserums auch eine höhere Avidität besitzen als die des Normalserums, so wäre ein solches Verhalten wohl denk-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bar. Jedenfalls aber führen diese Versuche, namentlich im Zusammenhange mit den in Tabelle I wiedergegebenen Blutabsorptionsversuchen, zur Annahme der einheitlichen Avidität für die normalen Agglutinine. Dieser auf Grund unserer Versuche erhobene Befund ist auch ohne weiteres verständlich.

Die verschiedene Avidität der Immunagglutinine wird von Müller darauf zurückgeführt, daß einerseits gleichzeitig im Blutserum Antikörper aus verschiedenen Immunisierungsperioden vorhanden sind, da ja in einer späteren Zeit Antikörper mit höherer Avidität gebildet werden als im Anfang der Immunisierung, und daß andererseits die älteren Antikörper einer Abschwächung in der Blutbahn unterworfen sind. Der erste Vorgang kommt für die normalen Antikörper überhaupt nicht in Betracht. Was das zweite Moment, die Abschwächung der älteren Antikörper in der Blutbahn betrifft, so haben Joergensen und Madsen eine gewisse Gesetzmäßigkeit zwischen der Intensität der Neubildung und Ausscheidung resp. Zerstörung der Antikörper gefunden, in dem Sinne, daß beide Vorgänge miteinander parallel verlaufen und sich entgegenarbeiten, bis ein Gleichgewicht zwischen Produktion und Ausscheidung erreicht ist.

Da nun die Produktion der normalen Antikörper eine viel geringere und vor allem eine nicht sprungweise, sondern wohl kontinuierliche und regelmäßig verlaufende ist, so dürfte der Abschwächungsvorgang keine wesentliche Rolle spielen. Dazu kommt noch, daß die Antikörper des Normalserums als normale Zellprodukte geringeren Veränderungen in der Blutbahn unterliegen dürften, als die erst auf einen gewissen Reiz hin von den Zellen abgestoßenen Immunkörper.

b) Avidität erhitzter Sera.

Die folgenden Versuche sollen über den Einfluß des Erhitzens auf die Avidität Aufschluß geben. Von den zu untersuchenden Rinderseris wurde eine Portion eine halbe Stunde, eine zweite 1 Stunde, eine dritte 2 Stunden auf 58° C erwärmt. Die erwärmten Proben wurden gleichzeitig mit einer nicht erhitzten Portion des betreffenden Serums in der üblichen Weise mit Kaninchenblut ausgewertet. Zur Bestimmung der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Avidität wurde von allen Erhitzungsproben und vom Kontrollserum die gleiche Zahl Agglutinationseinheiten genommen und in allen Röhrchen mit Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen aufgefüllt. Die Versuchsanordnung war die gleiche, wie sie schon früher beschrieben wurde. Die Avidität wurde wieder in doppelter Weise, durch Bestimmung der Bindung und andererseits durch die Prüfung der Abspaltung, untersucht.

Tabelle III.

Rindersera	Agglutinationseinheit des				Zahl der Agglutinationseinheiten	Absorptionskoeffizient des				Abgespalten im				Anmerkung
	nativen Serums	$^1/_2{}^h$ erhitzten Serums	1^h erhitzten Serums	2^h erhitzten Serums		nativen Serums	$^1/_2{}^h$ erhitzten Serums	1^h erhitzten Serums	2^h erhitzten Serums	nativen Serum	$^1/_2{}^h$ erhitzten Serum	1^h erhitzten Serum	2^h erhitzten Serum	
1	0,01	.	.	0,025	100	0,8	.	.	0,85	4	.	.	4	
2	0,05	.	0,2	0,3	40	0,58	.	0,28	0,17	2	.	4	4	
3	0,05	.	.	0,1	50	0,30	.	.	0,79	2	.	.	2	
4	0,01	.	0,02	0,02	150	0,3	0,3	.	0,3	2	2	.	2	
5	0,01	0,02	.	.	175	0,4	0,4	.	.	2	2	.	.	
5	0,01	.	0,04	.	87	0,59	.	0,59	.	4	.	4	.	
5	0,01	.	.	0,1	50	0,88	.	.	0,88	2	.	.	2	
6	0,01	.	.	0,05	340	0,5	.	.	θ	4	.	.	θ	
7	0,02	0,05	.	.	50	0,63	0,84	.	.	2	2	.	.	
7	0,02	.	.	0,08	110	0,6	.	.	2,55	4	.	.	4	
7	0,02	.	.	0,08*	100	0,2	.	.	0,2*	5	.	.	5*	*$3^1/_2{}^h$ erhitzt
8	0,03	0,1	.	.	45	0,73	0,55	.	.	2	4	.	.	
8	0,03	.	.	0,2	42	0,88	.	.	0,52	2	.	.	6	
9	0,02	0,04	.	.	100	0,73	0,6	.	.	3	3	.	.	
9	0,02	.	0,18	.	55	0,54	.	0,09	.	2	.	4	.	Versuch mit einer anderen Blutaufschwemmung
12	0,03	0,04	0,1	.	130	0,54	0,54	0,38	.	5	5	5—10	.	
12	0,02	.	.	0,08	125	0,5	.	.	0,2	2—3	.	.	10	Versuch mit einer anderen Blutaufschwemmung
13	0,04	0,08	0,12	.	100	0,7	0,4	0,4	.	3	10	10	.	
14	0,02	0,04	0,2	.	80	0,75	0,75	0,75	.	3—5	3—5	3—5	.	
15	0,03	0,06	0,08	.	100	0,5	0,33	0,16	.	5	5	10	.	

Diese Versuche ergeben, wie ja auch Landsteiner und Reich fanden, einen deutlichen Verlust des Agglutiningehaltes durch Erhitzung. Diese Verluste nehmen mit der Länge der Erhitzungsdauer zu. Sehr merkwürdig war dagegen das Verhalten der Avidität gegenüber der Erhitzung. Nur bei fünf von den dreizehn untersuchten Rinderseren konnte eine Abnahme der Avidität beobachtet werden, die in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diesen fünf Fällen mit der Länge der Erhitzung stärker wurde. Bei den anderen Seris war aber innerhalb der gewählten Versuchsbedingungen überhaupt keine Abnahme der Avidität festzustellen. Ob nicht bei noch länger dauernder Erhitzung auch hier eine Abschwächung der Avidität eingetreten wäre, kann freilich nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, jedoch ist es immerhin höchst bemerkenswert, daß trotz beträchtlicher Verluste des Agglutiningehaltes — bei Serum No. 5 betrug der Verlust das Zehnfache des ursprünglichen Wertes — noch immer keine meßbare Aviditätsverringerung eingetreten war, wogegen bei anderen Seris schon nach einer 2—3-fachen Abnahme des Agglutiningehaltes eine recht beträchtliche Einbuße an Avidität festzustellen war. Ein besonderes Interesse beansprucht das Serum No. 3, bei dem nach der Erhitzung eine deutliche Steigerung der Avidität eintrat[1]). Eine wenn auch weniger beträchtliche Vermehrung der Avidität nach $^1/_2$-stündigem Erhitzen weist auch noch das Serum No. 7 auf. Diese anfänglich beobachtete Aviditätssteigerung verschwand bei Fortsetzung des Erwärmens. Das Auftreten einer derartigen Aviditätszunahme nach dem Erhitzen beschränkt sich allerdings nur auf die angeführten zwei Beobachtungen, scheint uns aber doch sichergestellt zu sein, da der Versuch mit Serum No. 3 auch bei Wiederholung genau dasselbe Resultat lieferte. Zum Verständnis dieser Erscheinung wäre daran zu denken, daß beim Erhitzen eine Größenzunahme der kolloiden Eiweißteilchen eintritt, welche eine leichtere Adsorbierbarkeit zur Folge haben kann. Allerdings muß berücksichtigt werden, daß die Teilchengröße nur als einer der mannigfachen Faktoren, die zusammen die Adsorbierbarkeit i. e. Affinität bedingen, gelten kann, und daß es daher vielleicht nur unter besonderen Bedingungen, die nur bei einzelnen Seris erfüllt werden, möglich ist, eine Aviditätszunahme durch Erhitzen zu beobachten. Jedenfalls aber darf aus den vorliegenden Versuchen geschlossen werden, daß Agglutinin- und Aviditätsverluste nicht in sehr engem Zusammenhang stehen müssen, sondern daß die Varia-

1) Ob eine länger fortgesetzte Erhitzung wieder eine Abnahme der Avidität zur Folge gehabt hätte, konnte aus Mangel an Material nicht festgestellt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bilität dieser beiden Eigenschaften in verschiedenen Blutseris, sogar derselben Tierart, recht beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist. Dieses Verhalten darf wohl mit Recht für die vorgebrachte Annahme verwertet werden, daß das Erhitzen nur unter besonderen, uns nicht näher bekannten Bedingungen Zustandsänderungen herbeiführt, die Schwankungen der Avidität zur Folge haben.

Auch auf eine andere Frage, nämlich auf den Zusammenhang zwischen Avidität und Intensität der Antikörperbildung sei hier mit einigen Worten eingegangen, namentlich um einige Mißverständnisse aufzuklären. P. Th. Müller gelangte zu der Anschauung, daß die Avidität der Antikörper von der Intensität des Produktionsvorganges abhängig sei. Die in dieser Form vorgebrachte Anschauung konnte zu dem Schlusse führen, daß ein Serum, welches einen höheren Agglutiningehalt, der einer intensiveren Produktion zuzuschreiben ist, aufweist, auch eine höhere Avidität besitzt als eines mit geringerem Agglutiningehalt, natürlich vorausgesetzt, daß die zu vergleichenden Sera aus derselben Immunisierungsphase stammen, kurze Zeit nach dem Aderlasse geprüft werden usw., mit einem Worte, daß tatsächlich alle Bedingungen erfüllt sind, die eine vergleichende Bestimmung der Avidität in zwei Seris zulassen. Nun hat der eine von uns (v. Eisler) gezeigt, daß derartig ausgewählte Sera trotz verschieden hohen Agglutiningehaltes die gleiche Avidität besitzen können. Also nur der in der oben erwähnten Form vorgebrachten Anschauung und dem daraus gezogenen Schluß haben unsere Bemerkungen in dieser Arbeit gegolten.

In einer neueren Mitteilung über Aviditätsverhältnisse präzisiert Müller seine Auffassung über diese Frage dahin, daß die Abhängigkeit der Avidität von der Intensität der Antikörperproduktion nur für ein bestimmtes Serum Geltung habe, daß also verschiedene Tiere bei gleich hohem Serumtiter verschiedene Aviditätsverhältnisse darbieten können. Damit wird den individuellen Unterschieden in der Art der Antikörperbildung zu den einzelnen Tieren Rechnung getragen und nur insofern ein Zusammenhang zwischen beiden Größen angenommen als im allgemeinen die Avidität mit der Wertigkeit des Serums ansteigt. Für viele Fälle ist diese An-

Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

schauung ohne weiteres zutreffend und die Aviditätssteigerung im Laufe der Immunisierung stellt eine schon oft beobachtete Tatsache dar. Häufig, wenn auch nicht immer, tritt dabei eine vermehrte Antikörperproduktion und mithin eine Steigerung des Serumtiters ein. Andererseits muß aber die Steigerung des Antikörpergehaltes und der Avidität auch in demselben Serum nicht parallel verlaufen. Es sei in dieser Beziehung auf Versuche von Kraus hingewiesen — Versuche, die übrigens Müller selbst in einer früheren Arbeit erwähnt —, welche zeigen, daß in manchen Fällen keine vermehrte Produktion von Antitoxin gegen das Gift des Vibrio Nasik im Vergleiche zu normalem Ziegen- und Pferdeserum stattfindet, trotzdem aber eine qualitative Veränderung im Sinne einer Aviditätssteigerung eintritt, indem derartige Immunsera das Toxin sofort neutralisieren, normale Pferde- und Ziegensera aber erst nach längerem Kontakte. Für die Agglutinine hat der eine von uns eine ähnliche Beobachtung gemacht. Ein Typhusbakterien agglutinierendes Kaninchenserum hatte zu einer bestimmten Zeit des Immunisierungsprozesses einen Absorptionskoeffizienten von 0,75. Nach einer weiteren Injektion war der Titer des Serums ganz gleich geblieben, der Koeffizient unter denselben Versuchsbedingungen aber auf 0,85 gestiegen.

Unserer Auffassung nach würden also die Intensität der Antikörperproduktion und die Avidität zwei nicht in direkter Beziehung zueinander stehende Vorgänge darstellen, die zwar häufig parallel gehen, aber nicht immer einen solchen gleichmäßigen Verlauf aufweisen müssen. Gegen einen direkten Zusammenhang der beiden Größen scheint uns namentlich auch der Umstand zu sprechen, daß manche Sera schon bei relativ niederem Titer eine hohe Avidität aufweisen, daß somit individuelle Verhältnisse der Antikörperbildung in quantitativer und qualitativer Richtung bei verschiedenen Tieren die größte Rolle spielen. Wir möchten übrigens darauf hinweisen, daß Müller bei Besprechung seiner Versuchsergebnisse (Centralbl. f. Bakt.) die Frage offen gelassen hat, ob die Intensität der Antikörperbildung und ihre Avidität direkt voneinander abhängig seien, oder es sich nur um zwei parallel verlaufende Vorgänge handle.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

c) Avidität der mit Aether extrahierten Sera.

Inaktivierte Rindersera wurden durchschnittlich 24 Stunden lang mit siedendem Aether extrahiert. (In der nachfolgenden Tabelle sind übrigens noch genauere Angaben gemacht, wie lange das betreffende Serum extrahiert wurde.) Die Länge der Extraktionsdauer hatte innerhalb der von uns eingehaltenen Grenzen keinen merkbaren Unterschied in der Wirkung zur Folge. Nach der Extraktion wurde der Aether aus dem Serum vertrieben, wobei eine Konzentrationsänderung vermieden wurde, und dieses gleichzeitig mit einer Portion desselben nicht extrahierten Serums auf seinen Agglutiningehalt gegen Kaninchenblut ausgewertet. Durch die Vorbehandlung mit Aether war, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, keine Abnahme der Agglutinationskraft eingetreten. Auch Ottolenghi und Mori haben gefunden, daß der Aether keine Wirkung auf die Agglutinine des Serums ausübe. Zur Erreichung der Avidität wurde, wie bei den früheren Versuchen, die gleiche Anzahl Agglutinineinheiten des gewöhnlichen und des extrahierten Serums mit je 0,5 ccm gewaschenen Kaninchenblutes versetzt und 2—3 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Die Bestimmung der Avidität erfolgte wieder in doppelter Weise durch Ermittelung des Absorptionskoeffizienten und Prüfung der Abspaltung.

Tabelle IV.

Rindersera	Agglutinat.-Einheit des		Zahl der Agglutinationseinheiten	Absorptionskoeffizient des		Abgespalten im		Anmerkung
	nativen Serums	extrahierten Serums		nativen Serums	extrahierten Serums	nativen Serum	extrahierten Serum	
5	0,02	0,02	200	0,5	0,5	10	10	18h extrahiert
8	0,03	0,03	130	0,23	0,23	5	5	7h „
8	0,02	0,02*	125	0,6	0,6	10	10	* noch weiter ca. 16h extrahiert
9	0,02	0,02	150	0,3	0,3	3	3	15h „
12	0,03	0,03	150	0,3	0,3	5	5	20h „
14	0,04	0,04	150	0,5	0,5	5	5	30h „
16	0,02	0,02	100	0,5	0,5	3—4	4	24h „
17	0,02	0,02	100	0,5	0,5	3—4	3—4	24h „
18	0,02	0,02	100	0,25	0,25	3—4	3—4	24h „
19	0,02	0,02	100	0,25	0,25	3—4	3—4	24h „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie Tabelle IV zeigt, hatte die Aetherbehandlung bei allen untersuchten Seris ebensowenig Einfluß auf die Avidität wie auf die Agglutinine selbst. Dieser Befund ist bemerkenswert, weil der Aether außer seiner bekannten zerstörenden Wirkung auf das Komplement auch andere physikalisch-chemische Veränderungen des Serums zur Folge hat, welche sich, z. B. wie Pick und Pribram zeigten, in einer veränderten Fällbarkeit des Serums dokumentieren können; allerdings wurde beim Pferdeserum keine Veränderung in dieser Richtung bemerkt.

Wir selbst haben bei den mit Aether extrahierten Seris als physikalische Veränderung eine bedeutende Viskositätssteigerung feststellen können. Messungen mit dem Apparate von Hess ergaben für unvorbehandelte Sera einen Durchschnittswert von 2, während die extrahierten Sera Werte von 4 erreichten. Wenn wir trotz dieser so beträchtlichen physikalischen Veränderung keine Beeinflussung der Avidität feststellen konnten, so muß diese Beobachtung im Sinne der schon bei den Erhitzungsversuchen vorgebrachten Anschauung verwertet werden, daß derjenige physikalisch-chemische Zustand der Serumkolloide, den wir mit dem Ausdrucke Avidität bezeichnen, von so vielerlei Faktoren bedingt wird, daß eine Veränderung in einer bestimmten Richtung noch nicht notwendig mit einer derartigen Verschiebung dieses Zustandes verknüpft ist, die eine Aenderung der Avidität zur Folge haben muß. Es wäre auch nicht ausgeschlossen, daß die gemessene Veränderung der Viskosität durch gleichzeitig, aber in anderem Sinne verlaufende Vorgänge kompensiert würde.

II. Immunsera.

In ähnlicher Weise wie bei den normalen Rinderseris wurde bei einer Reihe von Immunsera der Einfluß des Erhitzens und der Aetherbehandlung auf die Avidität studiert. Die untersuchten Seren stammten von Pferden, die mit Produkten des Typhusbacillus vorbehandelt worden waren. Zur Prüfung der Agglutinationskraft dieser Sera verwendeten wir Kochsalzaufschwemmungen von Agarkulturen. Wir stellten uns solche Aufschwemmungen in größerer Menge dar und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

versetzten sie zur Aufbewahrung mit Karbolsäure, so daß deren Gehalt in der Flüssigkeit 0,5 Proz. betrug. Auf diese Weise waren wir in der Lage, eine ganze Versuchsreihe mit derselben Bakterienanschwemmung durchzuführen. Zur Bestimmung der Agglutinationseinheit versetzten wir je 0,5 ccm unserer Bakterienaufschwemmung mit abgemessenen Serummengen und füllten dann mit 0,9-proz. Kochsalzlösung in allen Röhrchen auf das gleiche Volumen auf. Die Röhrchen wurden $1^1/_2$ Stunde bei 36° C gehalten und über Nacht im Zimmer stehen gelassen. Die Ablesung erfolgte am nächsten Morgen. Diejenige Serummenge, welche nach dieser Zeit eben noch vollkommene Agglutination hervorgebracht hatte, so daß also die Flüssigkeit über dem Bakteriensedimente ganz klar war, wurde als eine Agglutinationseinheit angenommen.

Da die Agglutinine des Immunserums, wie Landsteiner und Reich gezeigt haben, gegen Erhitzung eine höhere Resistenz besitzen als die des Normalserums, wurden die Immunsera einer Temperatur von 60° C ausgesetzt. Zur Verhütung von Gerinnungsvorgängen waren die Sera mit 0,9-proz. Kochsalzlösung verdünnt. Im übrigen gestaltete sich die Versuchsanordnung zur Bestimmung der Avidität ganz ähnlich der für die Normalsera angewendeten, so daß von einer näheren Beschreibung abgesehen werden kann. Die Wiedergabe unserer Versuche in Form zweier Tabellen wird ohne weiteres verständlich sein. Tabelle V enthält die Versuche über den Einfluß der Erhitzung.

Tabelle V.

Typhusimmunsera	Agglutinationseinheit des nativen Serums	Agglutinationseinheit des $^1/_2$ h erhitzten Serums	Agglutinationseinheit des 1 h erhitzten Serums	Zahl der Agglutinationseinheiten	Absorptionskoeffizient des nativen Serums	Absorptionskoeffizient des $^1/_2$ h erhitzten Serums	Absorptionskoeffizient des 1 h erhitzten Serums	Abgespalten im nativen Serums	Abgespalten im $^1/_2$ h erhitzten Serums	Abgespalten im 1 h erhitzten Serums	Anmerkung
Laura	0,0002		0,0005*	2000	0,47		0,47*	12		12*	*) 2h auf 60° erhitzt
„	0,0003	0,0006		1000	0,58	0,58		5	5		
„	0,0004		0,0008	1000	0,58		0,58	7		7	
Janus	0,003	0,006		300	0,37	0,37		6	6		
Karl	0,02	0,04	0,06	95	0,3	0,3	0,3	3	3	3	
Napoleon	0,006	0,006	0,006	500	0,6	0,6	0,6	7—8	7—8	7—8	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In den von uns untersuchten Seris war eine Abnahme der Avidität durch Erhitzen nicht festzustellen. Dieser Befund deckt sich nur zum Teil mit den bei den Normalseris erhobenen, bei denen in manchen Fällen durch das Erwärmen eine Aviditätsabnahme festgestellt werden konnte. Diese Differenz im Verhalten von Normal- und Immunsera dürfte mit der großen Wärmeresistenz der Immunagglutinine in Zusammenhang zu bringen sein.

Die folgende Tabelle VI soll die Wirkung der Aetherbehandlung auf die Avidität veranschaulichen.

Tabelle VI.

Typhusimmunsera	Agglutinationseinheit des		Zahl der Agglutinationseinheiten	Absorptionskoeffizient des		Abgespalten im		Anmerkung
	nativen Serums	extrahierten Serums		nativen Serums	extrahierten Serums	nativen Serums	extrahierten Serums	
Laura	0,0002	0,0002	1000	0,66	0,66	6—7	6—7	30h extrahiert
Janus	0,003	0,003	300	0,33	0,33	7—8	7—8	„
Karl	0,02	0,02	95	0,3	0,3	3	3	„
Günther	0,01	0,01	200	0,5	0,5	3	3	„
Napoleon	0,006	0,006	500	0,6	0,6	7—8	7—8	„

Wie aus diesen Versuchen hervorgeht, hatte die Vorbehandlung mit Aether keine Aenderung der Avidität bewirkt, ein Befund, der sich mit dem bei den Normalseris erhobenen vollkommen deckt.

III.

Zum Schlusse soll noch kurz über Versuche berichtet werden, die unternommen wurden, um zu untersuchen, ob Substanzen, die geeignet sind, in nicht spezifischer Weise eine Steigerung des Antikörpergehaltes nach Aufhören der Immunisierung hervorzurufen, einen Einfluß auf die Avidität ausüben. Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen in Zeiträumen von 8—10 Tagen mit Typhusbakterien 4—5mal injiziert. 8 Tage nach der letzten Injektion wurde den Tieren ein Aderlaß gemacht, der Agglutiningehalt des Serums und hierauf die Avidität in der üblichen Weise bestimmt. 8—14 Tage nach der letzten Injektion wurde mit der nicht spezifischen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vorbehandlung begonnen. Madsen und Tallquist haben sowohl bei Ziegen wie bei Kaninchen, die sie nach Aufhören der spezifischen Immunisierung mit Pyrogallol oder Pyrodin vorbehandelt haben, zuweilen eine Steigerung des Antikörpergehaltes gefunden und als charakteristisch für diese Substanzen hervorgehoben, daß sie hämolytisch wirken. Wir haben unsere Tiere teils mit Pyrogallol, teils mit Natrium glycocholicum vorbehandelt. Wir injizierten vom Pyrogallol im Laufe von 5—6 aufeinanderfolgenden Tagen im ganzen 12—14 ccm einer 2-proz. Lösung. Ungefähr dieselben Mengen wurden von dem gallensauren Salze injiziert. Am nächsten Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier entblutet, das Serum ausgewertet und wieder die Avidität bestimmt.

Die folgende Tabelle enthält eine Zusammenstellung der diesbezüglichen Versuche.

Tabelle VII.

Kaninchensera	Agglutinationseinheit des Serums		Anzahl der Agglutinationseinheiten	Absorptionskoeffizient des Serums		Abgespalten im Serum		Anmerkung
	vor der Behandlung	nach der Behandlung		vor der Behandlung	nach der Behandlung	vor der Behandlung	nach der Behandlung	
23	0,02	0,03	200	0,28	0,28	5	5	6 subkutane Injektionen mit 2-proz. Pyrogallollösung, im ganzen 4 ccm
459	0,02	0,03	200	0,5	0,75	3	5	dgl.
52	0,005	0,01	200	0,75	0,5	3	3	„
240	0,03	0,04	190	0,47	0,48	5	5	„
460	0,02	0,03	200	0,75	0,75	3	3—5	„
356	0,01	0,02	200	0,5	0,28	3	5	„
152	0,03	0,04	200	0,4	0,4	5	?	6 subkutane Injektionen mit 2-proz. Lösung von Natr. glycocholicum, im ganzen 13 ccm
347	0,03	0,04	200	0,15	0,4	5	3—5	dgl.
97	0,02	0,04	200	0,75	0,75	3	4	6 subkutane Injektionen mit 2-proz. Lösung von Natr glycocholicum, im ganzen 17 ccm
261	0,02	0,02	200	0,28	0,75	5	4	dgl.
345	0,01	0,02	200	0,15	0,28	3	2	6 subkutane Injektionen mit 2-proz. Lösung von Natr. glycocholicum, im ganzen 18 ccm
388	0,02	0,04	200	0,28	0,28	3	2	dgl.

Leider konnten wir in keinem Falle eine sichere Steigerung des Agglutiningehaltes nach den nicht spezifischen Injektionen beobachten. In der Regel war sogar eine Abnahme einge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

treten, nur bei einem Serum war der Agglutiningehalt konstant geblieben. Die Avidität war in den meisten Fällen gleich geblieben, in drei Fällen hatte sie abgenommen, in zwei Fällen zugenommen.

Zusammenfassung.

1) Die Agglutinine im normalen Serum besitzen zum Unterschiede von den Immunagglutininen gleiche Avidität.

2) Das Erhitzen normaler Sera kann eine beträchtliche Abnahme der Avidität zur Folge haben. In anderen Fällen aber tritt trotz beträchtlicher Agglutininverluste keine Abnahme der Avidität im erhitzten Serum ein, ja es kann möglicherweise durch das Erhitzen sogar eine Steigerung der Avidität zustande kommen.

3) Die Extraktion normaler Rindersera mit Aether hat weder auf den Agglutiningehalt noch auf die Avidität der Sera einen Einfluß.

4) Die untersuchten Typhusimmunsera wurden weder durch Erhitzen noch durch die Aetherbehandlung in ihrer Avidität verändert.

5) Versuche, in denen mit Typhus immunisierte Kaninchen nach Aufhören der spezifischen Immunisierung mit Pyrogallol oder Natrium glycocholicum injiziert wurden, ergaben kein deutliches Resultat in der Richtung, daß die erwähnten beiden Substanzen eine Steigerung der Avidität bewirken könnten.

Literatur.

v. Eisler, Zeitschr. f. Immmunitätsf., Bd. 1, 1909.
Joergensen und Madsen, Kopenhagen 1902.
Kraus, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 39.
Landsteiner und Reich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 1908.
Madsen und Tallquist, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1909.
Müller, Arch. f. Hyg., Bd. 64, 1908 und Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 1908.
—, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.
Ottolenghi und Mori, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 1908.
Pick und Pribram, Biochem. Zeitschr., Bd. 11, 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorstand: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann).]

Ueber die passive Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit bei Meerschweinchen.

Von Dr. **M. Onaka** (aus Japan).

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Februar 1910.)

Die Frage, ob die Tuberkulinüberempfindlichkeit analog der Serumüberempfindlichkeit (Otto) passiv auf normale Tiere übertragbar ist, ist zur Zeit noch nicht entschieden. Yamanouchi glaubte zwar passive Uebertragbarkeit bei Tuberkulose festgestellt zu haben, und hat versucht, diese Erscheinung zur Diagnostik der Tuberkulose zu benutzen. E. Eitner und E. Stoerk haben indessen nicht dasselbe Resultat bekommen. Auch Poepke und Busch kamen bei der Nachprüfung der Yamanouchischen Arbeit nicht zu den gleichen Resultaten. Sie glauben, daß die Yamanouchischen Resultate vielleicht durch den Phenolgehalt des Tuberkulins bedingt sein könnten. Phenol ruft anaphylaxieähnliche Vergiftungserscheinungen hervor. Nach U. Friedemann gelingt die passive Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das normale Meerschweinchen nicht. Er hat 5—10 ccm Serum von tuberkulösen Tieren normalen Meerschweinchen intraperitoneal und 24 Stunden später 0,4 ccm Tuberkulin injiziert; bei diesen Tieren war irgendein Unterschied gegenüber den Kontrollen (normale Meerschweinchen) nicht zu beobachten, während tuberkulöse Tiere nach der Injektion von 0,4 ccm Tuberkulin im Verlauf eines Tages zugrunde gingen.

Kürzlich erschien nun eine Arbeit von H. E. Helmholz über passive Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit bei Meerschweinchen; Helmholz glaubt mit der Pirquetschen kutanen Tuberkulinreaktion die passive Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das gesunde Tier

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bewiesen zu haben. Seine Versuchsanordnung war folgende: Stark kutan reagierende Tiere werden entblutet, das Blut steril aufgefangen, defibriniert und so bald wie möglich neuen Tieren intraperitoneal eingespritzt. Diese Tiere waren ein oder mehrere Male vor der Bluteinspritzung kutan mit Alttuberkulin in die Rückenhaut geimpft worden und wurden nach der Blutinjektion täglich in gleicher Weise behandelt. Ich habe die Helmholzschen Angaben einer Nachprüfung unterzogen.

Die Intrakutanreaktion wurde mit Kochschem Alttuberkulin „Höchst" zunächst bei gesunden und dann bei tuberkulösen Meerschweinchen ausgeführt. Bei meinen Versuchen wählte ich die Intrakutanmethode, da die kutane (Pirquet) und konjunktionale Tuberkulinprobe bei Meerschweinchen nicht anwendbar ist. Ich injizierte 0,02—0,025 ccm Tuberkulin in 0,1 ccm Flüssigkeitsmenge mit der Pravazschen Spritze intrakutan in die Mitte der enthaarten Rückenhaut; als Kontrolle 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Von 20 gesunden Tieren zeigte keines positive Reaktion. 18 tuberkulöse Tiere reagierten alle deutlich, zum Teil mit lokaler Rötung und Infiltration (Papel), zum Teil mit intrakutaner Blutsugillation an der Injektionsstelle und Infiltration. In den letzteren Fällen war das Zentrum nach 48 Stunden dunkelrot gefärbt (nekrotisch) und rings mit einem roten Hof umgeben. Nach mehreren Tagen war die Läsion unter Krustenbildung geheilt. Wenn die Reaktion in Form einer Papel auftrat, blieb die Infiltration länger als die Rötung bestehen. Nach 2 oder 3 Tagen war die Infiltration nur mehr an der Einstichstelle nachweisbar.

Die Reaktion war nach 24—48 Stunden am deutlichsten. Bei subkutan infizierten Tieren war die Intrakutanreaktion erst 10—14 Tage nach der Infektion, manchmal auch erst noch später auslösbar. Nach den Angaben von Helmholz habe ich die folgenden Versuche ausgeführt:

Versuch I. Normales Meerschweinchen.

1. X. Intrakutanimpfung. 2. X. 0.
2. X. 4 ccm Blut von einem tuberkulösen Tier, das mit einer 0,9 cm großen (im Durchmesser) Papel reagierte, intraperitoneal eingespritzt.
2. X. Intrakutanimpfung. 3. X. 0.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. X. Intrakutanimpfung. 4. X. Rötung und Infiltration 0,6 cm.
4. X. Intrakutanimpfung. 5. X. Rötung und Infiltration 0,7 cm.
5. X. Intrakutanimpfung. 6. X. Rötung und Infiltration 0,7 cm.
6. X. Intrakutanimpfung. 7. X. Rötung und geringe Infiltration 0,5 cm.
7. X. Intrakutanimpfung. 8. X. schwache Rötung (0,4 cm).

Versuch II. Normales Meerschweinchen.

12. X. Intrakutanimpfung. 13. X. 0.
13. X. 4 ccm Blut von einem tuberkulösen Tier (0,6 cm) intraperitoneal eingespritzt. 14. X. 0.
14. X. Intrakutanimpfung. 15. X. schwache Rötung und Infiltration 0,5 cm.
15. X. Intrakutanimpfung. 16. X. Rötung und Infiltration 0,7 cm.
16. X. Intrakutanimpfung. 17. X. Rötung und Infiltration 0,6 cm.
18. X. Intrakutanimpfung. 19. X. Rötung und Infiltration 0,5 cm.
19. X. Intrakutanimpfung. 20. X. positiv 0,5 cm, aber schwach gerötet.
20. X. Intrakutanimpfung. 21. X. schwache Rötung 0,3 cm.

Versuch III. Normales Meerschweinchen.

2. XII. 4 ccm Blut von einem tuberkulösen Tier (0,7 cm) intraperitoneal injiziert.
2. XII. Intrakutanimpfung. 3. XII. negativ.
3. XII. Intrakutanimpfung. 4. XII. negativ.
4. XII. Intrakutanimpfung. 5. XII. negativ.
6. XII. Intrakutanimpfung. 7. XII. schwache Rötung und Infiltration 0,4 cm.
7. XII. Intrakutanimpfung. 8. XII. Rötung und Infiltration 0,8 cm.
8. XII. Intrakutanimpfung. 9. XII. Papel 0,5 cm.
9. XII. Intrakutanimpfung. 10. XII. Papel 0,5 cm.
10. XII. Intrakutanimpfung. 11. XII. Papel 0,3 cm.

Wie diese Versuche zeigen, war 2 Tage nach der intraperitonealen Injektion des Blutes eine gewisse Reaktion, die in Rötung und mehr oder weniger starker Infiltration bestand, zu bemerken. (Die stärksten Reaktionen waren 4—5 Tage nach der Injektion zu beobachten.) Diese Resultate stimmen also mit den Beobachtungen von Helmholz überein. Es fiel indessen von vornherein auf, daß diese Reaktionen quantitativ und qualitativ von den echten Pirquetschen bei tuberkulösen Tieren verschieden sind. Nur schwache Rötung und Infiltration rasch vorübergehend, während dort Tage lang bestehende hämorrhagische Infiltrationen mit häufigem Ausgange in Nekrose.

Da bei den ferneren Helmholzschen Versuchen eine ganze Reihe wichtiger Kontrollen fehlen, namentlich die, ob

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

normale Meerschweinchen bei wiederholter Tuberkulininjektion nicht ebenfalls an und für sich schon eine solche leichte Reaktion ergeben, so habe ich dieselben in weiteren Versuchen nachgeholt.

Versuch mit normalen Meerschweinchen ohne intraperitoneale Injektion des Blutes.

Intrakutanimpfung	Versuch IV	Versuch V	Versuch VI	Versuch VII	Versuch VIII	Versuch IX
I	—	—	—	—	—	—
II	—	—	—	—	—	—
III	± 0,3 ccm	± 0,3 ccm	± 0,4 ccm	—	± 0,3 ccm	± 0,3 ccm
IV	+ 1,0 „	+ 0,6 „	+ 0,5 „	± 0,4 ccm	+ 1,0 „	± 0,4 „
V	+ 1,0 „	+ 0,6 „	+ 0,5 „	+ 0,5 „	+ 1,2 „	+ 0,6 „
VI	+ 0,7 „	+ 0,5 „	± 0,4 „	± 0,4 „	+ 0,8 „	+ 0,8 „
VII	+ 0,5 „	± 0,3 „	± 0,3 „	± 0,3 „	+ 0,6 „	+ 0,6 „
VIII	± 0,4 „	± 0,3 „	± 0,3 „	± 0,3 „	± 0,3 „	± 0,4 „

— Keine Reaktion, keine Rötung und Schwellung.
± Schwache Reaktion mit Rötung und papelartige Schwellung.
+ Positive Reaktion mit Rötung und papelartige Infiltration.

Diese Versuche lehren also, daß man bei normalen Meerschweinchen ohne intraperitoneale Injektion des tuberkulösen Blutes dieselben Resultate wie Helmholz bekommen kann. Wenn man einem nicht tuberkulösen Meerschweinchen täglich 0,025 ccm Alttuberkulin intrakutan einspritzt, kann man am 4. oder 5. Tage nach der ersten Injektion eine im Sinne von Helmholz positive Reaktion beobachten. [Um eine echte intrakutane Reaktion (Hämorrhagien, Nekrose, Kokardenform) handelt es sich dabei, wie ich hier hervorheben möchte, nicht.] Von den 6 Versuchen fielen 4 ziemlich stark positiv aus, 2 davon etwas schwächer. Die Reaktionen fangen am 3. Tage an, erreichen am 4. oder 5. Tage ihren Höhepunkt und nehmen nachher allmählich wieder ab. Diese Erscheinungen sind ganz identisch mit denen, welche Helmholz bei seinen Versuchen nach vorhergehender Injektion von tuberkulösem Blut erhalten hat. Ich erzielte fast gleiche Resultate, wenn ich einem normalen Meerschweinchen vor Ausführung der Intrakutanreaktionen statt wie Helmholz tuberkulöses Meerschweinchenblut 4—5 ccm normales Meerschweinchenblut injizierte.

Bei einem weiteren Versuche an einem normalen Meerschweinchen benutzte ich eine 4- oder 5mal größere Dosis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Tuberkulin (0,1 ccm). Obwohl diese relativ große Menge von Tuberkulin auf einmal dem Tiere intrakutan injiziert wurde, blieb die Reaktion negativ. Es scheint also die Verteilung der Tuberkulininjektionen über mehrere Tage das Ausschlaggebende zu sein.

Wenn ich einem normalen Meerschweinchen 0,1 ccm normales Pferdeserum täglich intrakutan einspritzte, zeigte sich niemals eine Reaktion.

Auf Grund der oben mitgeteilten Resultate komme ich zu der Schlußfolgerung, daß man mit der Intrakutanreaktion die Möglichkeit einer passiven Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit in der von Helmholz gewählten Versuchsanordnung nicht sicher beweisen kann.

Ich habe daher einen Versuch nach der U. Friedemannschen Methode ausgeführt. Auch nach dieser Methode ist es nicht gelungen, die Tuberkulinüberempfindlichkeit passiv zu übertragen. Ich habe bei diesem Versuche einem normalen Meerschweinchen 4 ccm Blut von einem tuberkulösen Tiere, welches sich nach der Intrakutanprobe positiv verhielt, intraperitoneal eingespritzt. 2 Tage nach der Injektion habe ich diesem Tiere und gleichzeitig zur Kontrolle auch einem normalen und einem tuberkulösen Meerschweinchen je 0,5 ccm Tuberkulin subkutan injiziert. Das tuberkulöse Tier ging am folgenden Tage zugrunde, während die beiden anderen Tiere am Leben blieben.

Dieses Resultat stimmt mit den Friedemannschen Angaben überein.

Bei einem anderen Versuche habe ich nach der Injektion des Blutes 0,5 ccm Tuberkulin zweimal hintereinander in einem Intervall von 24 Stunden eingespritzt; auch hierbei blieb das Tier, welches mit tuberkulösem Blut vorbehandelt war, ebenso wie das Normaltier, ohne irgend eine Reaktion zu zeigen, am Leben.

Die Bedeutung der schwach positiven Reaktion, welche bei normalen Meerschweinchen nach wiederholter Ausführung der Intrakutanprobe auftritt, ist mir noch nicht klar. Aber es ist wahrscheinlich, daß das gesunde Gewebe, welches mehrmals tuberkulöses von Tuberkelbacillen herrührendes Material resorbiert hat, eine höhere Reaktionsfähigkeit behält und daher

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

diese lokale Reaktion zeigt, ähnlich wie man dies bei dem „Wiederaufflammen“ der Ophthalmoreaktion sieht.

Zusammenfassung.

1) Tuberkulöse Meerschweinchen zeigen fast konstant nach der intrakutanen Injektion von Tuberkulin eine positive Intrakutanreaktion, während Kutan- und Ophthalmoreaktion negativ ausfallen.

2) Die Möglichkeit einer passiven Uebertragung der Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das gesunde Meerschweinchen läßt sich mit der Intrakutanreaktion bis jetzt nicht beweisen. Die Resultate, die man erhielt, lassen sich auch bei normalen Tieren bei wiederholter Ausführung der Probe erzielen.

Literatur.

1) Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 1.
2) Yamanouchi, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 47.
3) Eitner, E. und Stoerk, E., Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 23.
4) Roepke und Burch, Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 14, Heft 2.
5) Friedemann, U., Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 49.
6) Helmholz, H. F., Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 3, No. 4.
7) Römer, P., Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 12, p. 155.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte zu Berlin.]

Beitrag zur Kenntnis der Ursachen der Pneumokokkenimmunität, insbesondere zum Verhalten „serumfester“ Pneumokokkenstämme.

Von Dr. **E. Ungermann**,
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Februar 1910.)

Die Kenntnis der bakteriolytischen und antitoxischen Eigenschaften der Immunsera hat auf unsere Anschauungen über das Wesen der Immunität gegenüber der Mehrzahl der Infektionserreger in hohem Grade klärend gewirkt. Doch hat es sich gezeigt, daß die Kenntnis dieser beiden Faktoren noch keineswegs zur Erklärung einer jeden Immunität genügt. So ist bisher für die Annahme, daß diese Kräfte auch bei der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Immunität gegen virulente Kokken die Hauptrolle spielen, noch kein experimenteller Beweis erbracht.

Im weiteren Verfolg der Metschnikoffschen Gedanken begründeten Denys und seine Schüler Leclef, Marchand, Mennes und Neufeld und Rimpau die Anschauung, daß die Phagocytose bei der Immunität gegen virulente Kokken die wichtigste Rolle spiele und daß, wenigstens bei der passiven Immunität gegen Streptokokken und Pneumokokken Tropine, spezifische phagocytäre, thermostabile Substanzen des Serums die Träger der Schutzwirkung seien.

Diese Anschauung hat, obwohl sie auf sicheren experimentellen Tatsachen fußt, bis in die neueste Zeit vielfache Anfeindungen zu erfahren gehabt. So hat kürzlich Römer[1]) in einer sehr eingehenden Publikation zunächst in zahlreichen Versuchen die bekannte Tatsache bestätigt, daß Normalsera phagozytäre Stoffe nur gegenüber avirulenten Pneumokokken enthalten, und daß diese Stoffe thermolabil sind; er glaubt (l. c. p. 134—136), sie mit den hämolytischen Komplementen identifiziert zu haben. Da aber die Komplemente bei der Immunisierung nicht vermehrt worden, so könne die Wirkung des Pneumokokkenserums nicht auf Opsoninen beruhen.

Der Autor führt alsdann von seinen zahlreichen Phagocytoseversuchen mit dem Serum immunisierter Kaninchen und Meerschweinchen drei Versuche an (p. 141), in denen das Immunserum keinen Einfluß auf die Phagocytose hatte; er gibt aber nicht an, ob die betreffenden Sera auf ihren Schutzwert im Tierversuch geprüft worden sind. Neufeld und Haendel haben bereits erwähnt, daß sie mit Römers eigenem Serum eine ausgezeichnete spezifische Phagocytose gegenüber maximal virulenten Pneumokokken erhielten. Diese Mitteilung sei hier dahin ergänzt, daß diese Versuche das folgende ganz eindeutige Ergebnis hatten: es wurden zwei Proben des von Merck ausgegebenen Römerschen Antipneumokokkenserums untersucht; die erste ergab gar keine Phagocytose, sie hatte aber auch im Mäuseversuch gar keine

1) P. Römer, Experimentelle und klinische Grundlagen für die Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion der menschlichen Cornea (Ulcus serpens), Wiesbaden 1909, p. 108—179. — Diskussion zu dem Vortrage von Neufeld und Haendel auf der Wiener Mikrobiologenversammlung 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schutzwirkung, die zweite zeigte bei wiederholter Prüfung in vitro stets starke Tropinwirkung und ebenso regelmäßig hohen Schutzwert bei der Prüfung an Mäusen. Die Versuchsanordnung dieser Phagocytoseversuche in vitro entsprach durchaus der unten in Versuch 4 mitgeteilten; es erübrigt sich daher die ausführliche Wiedergabe des Protokolls.

Wir möchten noch nicht so weit gehen, zu behaupten, daß alle hochwertigen Pneumokokkenimmunsera, gleichviel von welcher Tierart sie stammen und mit welchen Stämmen sie gewonnen sind, Tropine enthalten müssen; von Römer ist jedoch bisher in keinem Falle das Gegenteil bewiesen worden. Wir sind zurzeit beschäftigt, Serum verschiedener Tierarten in dieser Hinsicht weiterhin zu prüfen.

Römer vertritt auf Grund seiner Versuche die Ansicht, daß sich die Lehre von der Bedeutung der Phagocytose für den Mechanismus der Pneumokokkenimmunität nur durch die Verwendung avirulenter bezw. spontan phagozytabler Stämme zu den grundlegenden Versuchen habe entwickeln können. Diese Behauptung trifft für die Arbeiten von Neufeld und Rimpau nicht zu. Denn die Autoren benutzten ebenso wie vor ihnen Denys und Mennes Stämme, die gar keine spontane Phagocytose zeigten; sie geben die Dosis letalis sowohl des Streptococcus als des Pneumococcus auf 0,000001 ccm Bouillonkultur an und betonen in ihren Mitteilungen mehrfach mit Nachdruck, daß sich ihre Versuche und die daraus gezogenen Folgerungen nur auf virulente Kokkenstämme beziehen. Der Grundgedanke der Arbeiten von Neufeld und Rimpau war ja gerade der, daß Immunserum, erhalten durch Injektion hochvirulenter Streptokokken und Pneumokokken bei hochempfänglichen Tieren[1]) unter starker Anregung der Phagocytose eine bedeutende Schutzwirkung ausübe, und daß unter seinem Einfluß in vitro eine sehr lebhafte Aufnahme der virulenten Kokken durch die Leukocyten stattfinde; diese Anregung der Phagocytose sei der einzige bisher bekannte, für die Heilwirkung in Betracht kommende spezifische

1) Römer (l. c. p. 169ff.) hat dagegen an den für Pneumokokken wenig empfänglichen Meerschweinchen Phagocytoseversuche angestellt; dieselben sind daher nicht ohne weiteres mit den Tierversuchen von Neufeld und Rimpau vergleichbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Effekt eines solchen Immunserums und gehe Normalseris gänzlich ab.

Diesen Grundgedanken hat z. B. auch Sauerbeck in einer kürzlich erschienenen Arbeit[1]) völlig verkannt, wenn er aus seinen Versuchen den Schluß zieht, daß ein von ihm untersuchtes Streptokokkenimmunserum den Angaben von Neufeld und Rimpau nicht entsprach, also nicht als einzigen nachweislich wirksamen Faktor Bakteriotropine enthielt. Jedoch entsprach auch das Material, das er in seinen Versuchen benutzte, in keiner Weise dem von Neufeld und Rimpau. Seine Versuche beziehen sich auf ein käufliches „polyvalentes" Serum, über dessen Schutzwirkung im Tierexperiment, insbesondere den von ihm benutzten Kokkenstämmen gegenüber, er keine Angaben macht. Ueber die Virulenz der Streptokokkenstämme läßt er uns ebenfalls vollkommen im unklaren und gibt ebenso nichts über die Empfänglichkeit der Tiere, welche das zu den Versuchen verwandte Normalserum (Meerschweinchen) lieferten, für die betreffenden Streptokokkenstämme an, ein Punkt, der ja an sich mehr in das Gebiet der Opsonine fällt, hier aber ebenfalls interessiert, da Sauerbeck die Wirkung des Normalserums zu der des Immunserums in Parallele setzt und daraus Schlüsse zieht. Sauerbeck hat demnach fast alle Bedingungen, auf die Neufeld und Rimpau so großen Wert legen, in seinen Versuchen nicht berücksichtigt, und so dürfte seine Arbeit, die in anderer Richtung gewiß vielerlei Interessantes bringt, die Kenntnis der Antikörper, auf denen die erworbene Streptokokkenimmunität beruht, nicht wesentlich gefördert haben. Auf eine weitere Fehlerquelle in Sauerbecks Versuchen, nämlich die Verwendung konzentrierten, noch dazu anscheinend karbolisierten Serums an Stelle von abgestuften Verdünnungen will ich hier nicht näher eingehen[2]); ich habe die obigen Punkte

1) E. Sauerbeck, Experimentelle Studien über Phagocytose. Zeitschrift für Immunitätsforschung, Bd. 3, Heft 7.

2) Die Ursache der dem Autor rätselhaften Verschiedenheit in dem Ausfall seiner beiden Versuche über Streptokokkenphagocytose läßt sich wohl darin vermuten, daß in Versuch A, wo 2 Tropfen konzentrierten Immunserums zugesetzt wurden, entweder, wie Neufeld und Bickel und andere öfter beobachteten, durch Ueberschuß an Serum oder durch das darin enthaltene Phenol eine sehr starke Hemmung eintrat. Darüber, ob das Serum Tropin enthielt oder nicht, geben die beiden Versuche keine Auskunft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deshalb ausführlicher besprochen, weil in vielen neueren Arbeiten über die phagozytären Stoffe gegen Streptokokken und Pneumokokken der den klassischen Versuchen von Denys zugrunde liegende Gedanke, zwischen den Vorgängen im Tierkörper und denen in vitro gesetzmäßige Beziehungen zu finden, sehr zu Unrecht in den Hintergrund getreten ist. Ich möchte nun im folgenden einige Beobachtungen bekannt geben, die geeignet sind, die Phagocytose- und Bakteriotropintheorie bezüglich der Pneumokokken zu stützen. Diese Beobachtungen beziehen sich auf einen bemerkenswerten Spezialfall in der Wirksamkeit eines Pneumokokkenimmunserums, der die Parallelität seiner Schutzwirkung im Tierkörper und seiner phagocytären Wirkung in vitro aufs klarste darlegt.

Die Wahl gerade der Pneumokokken für die Darstellung dieser Verhältnisse schien zunächst deshalb erwünscht, weil bisher nur wenige detaillierte Protokolle über die Phagocytose dieser Mikroorganismen gegeben wurden; unsere Pneumokokkenstämme erschienen für diese Versuche als sehr geeignet, da sie eine konstante maximale Virulenz zeigten und in vitro unter dem Einfluß von Normalserum keine Phagocytose erlitten. Die Bedingungen für ein einwandfreies Experimentieren waren daher sehr leicht zu schaffen und die Deutung der Resultate insofern vereinfacht, als Schutzstoffe des Normalserums dabei nicht in Betracht kamen. Was nun besonders zu den folgenden Versuchen veranlaßte, war die Beobachtung von „serumfesten" Stämmen unter den Pneumokokken, von Stämmen, die im Tierexperiment durch ein hochwertiges Immunserum keine Beeinflussung erkennen ließen. Die Ansichten über den Einfluß eines Pneumokokkenimmunserums auf heterologe Stämme schwanken unter den Autoren zwischen den Extremen; die einen behaupten, daß ein Immunserum auch gegen alle fremden Stämme schütze, die anderen, so besonders Kindborg[1]), meinen, daß ein Serum nur allein auf den homologen Stamm wirke. Neufeld und Haendel[2]) fanden, daß ein hochwertiges Serum auch gegen die Mehrzahl der fremden Stämme etwa ebensogut schütze wie gegen

1) Zeitschr. für Hygiene, Bd. 51, p. 197.

2) Ueber Herstellung und Prüfung von Antipneumokokkenserum und über die Aussichten einer spezifischen Behandlung der Pneumonie. Zeitschrift für Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Teil I, Bd. 3, Heft 2, p. 159.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den homologen, beobachteten aber einzelne Stämme, bei denen diese Schutzwirkung versagte und bezeichneten sie daher als „serumfest".

Die folgenden Protokolle zeigen den Verlauf der Infektion mit zwei gleich hochvirulenten Pneumokokkenstämmen, von denen der eine serumfest ist, unter dem Einfluß eines hochwertigen Immunserums bei der Maus. Das Serum stammt von einem mit Pneumococcus I immunisierten Pferde (Entnahme vom 11. Oktober 1908). Zum Versuche wurde den Mäusen je 0,2 ccm Serum intraperitoneal injiziert, 3 Stunden später die 24-stündige Kultur (in Bouillon mit Serumzusatz) ebenfalls intraperitoneal.

Versuch I vom 17. III. 1909

mit Pneumococcus I, dem zur Immunisierung benutzten, vielfach durch Mäuse passierten Stamm.

Serum		Kultur		Ausgang
0,2 ccm	Immunpferdeser.	0,1	ccm	lebt
0,2 „	„	0,01	„	
0,2 „	„	0,001	„	
0,2 „	„	0,0001	„	
0,2 ccm	Normalpferdeser.	0,0001	„	† 19. III.
0,2 „	„	0,00001	„	
0,2 „	„	0,000001	„	

Versuch II vom 13. II. 1909

mit Pneumococcus Fr., einer 24-stündigen Bouillonkultur direkt aus dem Herzblut einer mit dem Sputum des Patienten Fr. infizierten Maus.

Serum		Kultur			Ausgang
0,2 ccm	Immunpferdeser.	0,1	ccm	Pneumok. Fr.	† 15. II.
0,2 „	„	0,01	„	„ „	
0,2 „	„	0,001	„	„ „	
0,2 „	„	0,0001	„	„ „	
0,2 ccm	Normalpferdeser.	0,0001	„	„ „	† 15. II.
0,2 „	„	0,00001	„	„ „	
0,2 „	„	0,000001	„	„ „	

Hiernach gewährt das Serum einen sehr erheblichen Schutz gegen Pneumococcus I, dagegen schützt es nicht gegen die gleichen Dosen des Pneumococcus Fr. Zum Beweise, daß diese Verschiedenheit nicht etwa darauf beruht, daß der letzte Stamm frisch aus einem menschlichen Krankheitsfalle kam, während der erste Mäusepassagen durchgemacht hatte, sei zunächst daran erinnert, daß Neufeld und Haendel (a. a. O.) den Stamm Fr. auch nach Mäusepassagen ebensowenig auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das Serum reagieren sahen; ferner sei ein Protokoll mitgeteilt, aus welchem die Beeinflussung eines anderen, ebenfalls direkt aus dem Patienten isolierten Pneumokokkenstammes zu ersehen ist.

Versuch III vom 18. II. 1909

mit Pneumococcus Kl., einer 24-stündigen Bouillonkultur direkt aus dem Herzblut der mit Sputum des Patienten infizierten Maus.

Serum	Kultur	Ausgang
0,2 ccm Immunpferdeser.	0,1 ccm Pneumok. Kl.	lebt
0,2 „ „	0,01 „ „ „	
0,2 „ „	0,001 „ „ „	
0,2 „ „	0,0001 „ „ „	
0,2 ccm Normalpferdeser.	0,0001 „ „ „	† 20. II.
0,2 „ „	0,00001 „ „ „	
0,2 „ „	0,000001 „ „ „	

Wie verhält sich nun der Stamm, dem gegenüber die Schutzwirkung des Immunserums im Tierkörper versagte, beim Phagocytoseversuch in vitro unter dem Einfluß des gleichen Serums?

Ueber die technischen Einzelheiten dieses Versuches mögen hier folgende Bemerkungen gegeben werden: Zur Verwendung gelangten 24-stündige Kulturen der hochvirulenten Pneumokokken in Bouillon mit 10 Proz. Serumzusatz, in der ihre Virulenz besser erhalten bleibt; ferner eine Aufschwemmung frischer, gewaschener Peritonealexsudatleukocyten des Meerschweinchens von einer bestimmten Dichte in Kochsalzlösung, sodann das hochwertige, über ein Jahr alte Immunpferdeserum und frisches Meerschweinchenkomplement. Das letztere wurde mit in den Versuch hineinbezogen, um einen eventuellen verstärkenden Einfluß auf die phagocytäre Wirkung des Immunserums kennen zu lernen. In unserem Versuche hat sich ein solcher Einfluß nicht zu erkennen gegeben.

Die Mischung dieser Bestandteile — von den Kulturen und der Leukocytenemulsion gelangten jedesmal zwei Tropfen, vom Immunserum und seinen Verdünnungen möglichst gleiche, geringe Quantitäten zur Verwendung — wurde in dem dargestellten Versuche 3 Stunden im Brutschrank bei 37° belassen. Die Dauer der Bebrütung ist von Bedeutung für den Ausfall der Phagocytose, indem innerhalb der ersten Stunde die Aufnahme dieser virulenten Kokken eine sehr geringe zu sein pflegt. In einigen Versuchen beließen wir die Mischungen 4 Stunden im Brutschrank und erhielten dabei besonders schöne Präparate. Diese wurden in der Weise hergestellt, daß der Leukocytenbodensatz der einzelnen Röhrchen nach möglichst vollständiger Entfernung der überstehenden Flüssigkeit ausgestrichen und mit Methylenblau gefärbt wurde.

Das folgende Protokoll gibt das Resultat eines der stets gleichsinnig ausgefallenen Versuche wieder.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch IV vom 1. XII. 1909.

Zu dem Leukocyten-Pneumokokkengemisch wurden zugesetzt	Ausfall der Phagocytose nach 3-stündiger Bebrütung bei 37°	
	mit dem virulenten Stamm Pn. I	mit dem virulenten serumfesten Stamm Fr.
Ein Tropfen physiolog. Kochsalzlösung	1. fast 0 (Aufnahme einzelner Kokken durch wenige Leukocyten)	9. fast 0
0,03 ccm spezifischen Pneumokokken-Immunpferdeserums	2. Phagocytose sehr stark. Die Mehrzahl der Leukocyten dicht ausgefüllt	10. Phagocytose ebenso gering wie in der Kochsalzkontrolle
0,01 ccm dgl.	3. Wie in 2.	11. dgl.
0,003 ccm dgl.	4. Phagocytose gering, aber deutlich stärker als in der Kontrolle	12. dgl.
0,001 ccm dgl.	5. Wie in 1.	13. dgl.
0,01 ccm dgl., dazu ein Tropfen Meerschw.-komplement	6. Wie in 2.	14. dgl.
0,003 ccm dgl.	7. Wie in 4.	15. dgl.
0,001 ccm dgl.	8. Wie in 1.	16. dgl.

Ein diesem Versuch ganz entsprechendes Resultat ergab die Beobachtung der Phagocytose jener beiden Pneumokokkenstämme im Peritoneum der Maus unter dem Einfluß des gleichen Serums.

Zum Versuche wurde den Mäusen 0,2 ccm des Immunpferdeserums und eine Stunde später 0,1 bezw. 0,01 ccm einer 24-stündigen Serumbouillonkultur der virulenten Kokken intraperitoneal injiziert. Die Methode der Exsudatentnahme mittels Kapillaren ergab die Verfolgung der phagocytären Prozesse insofern ein befriedigendes Resultat, als ausschließlich bei den mit Pneumococcus I geimpften und mit Serum vorbehandelten Mäusen Phagocytose beobachtet wurde, niemals dagegen bei den in gleicher Weise vorbehandelten und mit dem atypischen Stamm injizierten Tieren und ebensowenig bei den Kontrollen; auch war das Verschwinden der Kokken aus der Exsudatflüssigkeit bei den erstgenannten Tieren gegenüber den Kontrollen und den mit Pneumococcus Fr. geimpften Mäusen sehr deutlich zu erkennen. Man mußte jedoch, um starke Phagocytose zu finden, stets eine Reihe von Gesichtsfeldern, bisweilen sogar mehrere Präparate durchmustern, offenbar deshalb, weil sich die mit den Kokken beladenen Zellen sehr bald am Peritoneum festsetzen und so der Be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

obachtung entgehen. Für das Studium der cellulären Vorgänge dürfte deshalb diese Methode, mit der sich die im freien Exsudat sich abspielenden Prozesse so gut verfolgen lassen, weniger geeignet sein.

Dagegen zeigten Präparate, die direkt vom Peritoneum, besonders von der Leberoberfläche und vom Netze der etwa $2^1/_2$ Stunden nach der Kokkeninjektion getöteten Mäuse gewonnen waren, stets klare und eindeutige Bilder. Bei den mit Pneumococcus I injizierten und mit Serum vorbehandelten Mäusen waren die meisten Zellen mit Kokken beladen, während extracellulär fast keine Kokken mehr zu sehen waren; bei den Kontrollen und den mit Pneumococcus Fr. geprüften Tieren hatten sich die Kokken dagegen reichlich vermehrt, und an den nicht weniger zahlreich vorhandenen und gut erhaltenen Zellen war keine Spur von Phagocyten zu beobachten.

Im folgenden seien die Details eines dieser Versuche gegeben.

Versuch V vom 18. I. 1910.

	Resultat der Exsudatentnahme		Befund nach der Tötung um 2^h
	um $12^h 30$	um $1^h 15$	
Maus 1. Kontrolle ohne Serum. $11^h 30$ 0,1 ccm der 24-stündigen Bouillonkultur des hochvirulenten Pneumococcus I intraperitoneal	Viel freie Kokken, ziemlich viel Leukocyten, keine Phagocytose	Reichlich freie Kokken, sehr viele gut erhaltene Leukocyten, keine Phagocytose	Viel freie Kokken, viele Zellen, Phagocytose = 0
Maus 2. $10^h 30$ 0,2 ccm hochwertiges Pneumokokken-Immunpferdeserum intraperitoneal. $11^h 30$ dieselbe Menge von Pneumococcus I wie Maus I, ebenfalls intraperitoneal	Klares Exsudat, wenige Kokken, meist in Haufen beisammenliegend, wenige Zellen, darunter vereinzelte mit Kokken ausgefüllt	Spärliche stark gefüllte Phagocyten, wenige freie Kokkenhaufen	In jedem der Präparate an vielen Stellen sehr reichliche Phagocytose durch Leukocyten, Makrophagen und Endothelzellen, fast keine freien Kokken
Maus 3. Kontrolle ohne Serum. $11^h 30$ 0,1 ccm der 24-stündigen Bouillonkultur des hochvirulenten Pneumococcus Fr. intraperitoneal	Viel freie Kokken, viele Zellen, keine Phagocytose	Wie No. 1	Viele gut erhaltene Zellen, sehr viele freie Kokken. Phagocytose = 0
Maus 4. $10^h 30$ 0,2 ccm Immunser. wie No. 2 intraperitoneal. $11^h 30$ Kokkendosis wie No. 3 intraperitoneal	Wie No. 3	Wie No. 1 und No. 3	Zellen reichlich vorhanden und gut erhalten, Kokken sehr zahlreich. Phagocytose = 0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den Ergebnissen dieser Experimente kann wohl nur der Schluß gezogen werden, daß dem Versagen der Schutzwirkung des Immunserums im Versuch II gegenüber dem serumfesten Pneumokokenstamm in der Tat ein Ausbleiben der Phagocytose in vitro und in vivo entspricht.

Weiterhin zeigte sich in Versuch IV, daß eine Verstärkung der Tropinwirkung durch Komplementzusatz nicht erzielt werden konnte.

Nun ist bereits in der Arbeit von Neufeld und Haendel mitgeteilt worden, daß das Rekonvaleszentenserum in einem Falle von Pneumonie, der auf einem atypischen Stamme beruhte, eine ziemlich starke Schutzkraft sowohl dem eigenen wie einem zweiten atypischen Stamme gegenüber besaß, daß diese Stämme daher nicht im strengen Sinne des Wortes „serumfest" sind. Inzwischen ist es gelungen, durch wiederholte intravenöse Impfung eines Kaninchens mit dem Pneumococcus Fr. ein Serum zu erzeugen, das gegen den homologen Stamm in der gleichen Versuchsanordnung wie bei Versuch I und II bis gegen 0,1 des homologen Stammes schützte, während es anderen Stämmen gegenüber keine Schutzwirkung besaß. Dieses Serum bewirkte auch eine lebhafte Phagocytose des Pneumococcus Fr. in vitro und in vivo, während es andere Stämme nicht beeinflußte.

Der folgende Versuch zeigt den Ausfall der Phagocytose in vitro unter dem Einfluß des Pneumococcus Fr. Immunserums.

Versuch VI vom 14. II. 1910.

Zu den Leukocytenpneumokokkengemisch wurden zugesetzt	Ausfall der Phagocytose nach 3-stündiger Bebrütung bei 37°	
	mit Pneumococcus Fr.	mit Pneumococcus I.
1 Tropfen Kochsalzlösung	0	0
0,03 Fr.-Immunserum	+ (starke Agglutinat.)	0
0,01 „	++	0
0,003 „	++	0
0,001 „	±	0

Ganz gleichsinnig verlief die Phagocytose im Mäuseperitoneum mit dem Pneumococcus Fr. Immunserum; der Versuch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entsprach in seiner Anordnung ganz dem Versuch V. Die Fr. Pneumokokken waren nach 2 Stunden in sehr großer Menge von den Leukocyten und Endothelien aufgenommen, so daß nur ganz vereinzelte extrazellulär zu sehen waren. Viele der aufgenommenen Kokken zeigten degenerative Veränderungen, Quellung und Verblassung ihres Protoplasmas. Dagegen war in den mit Pneumococcus I hergestellten Präparaten und in den Kontrollen nirgends eine Phagocytose festzustellen. Auch in diesen Versuchen entsprach demnach die phagocytäre Wirkung des Immunserums durchaus seiner Schutzwirkung im Tierkörper.

Dieser Parallelismus zwischen den beiden einzigen greifbaren Effekten eines Pneumokokkenimmunserums kann kein zufälliger sein. Er beweist, daß zwischen der Schutz- und der Tropinwirkung eines solchen Serums enge Beziehungen bestehen, deren einfachste Deutung in der Annahme gegeben ist, daß beide Wirkungen von den gleichen Substanzen ausgelöst werden, den Bakteriotropinen, die durch ihre spezifischen phagocytären Wirkungen, ihre Stabilität und die Unabhängigkeit ihrer Aktivität vom Komplement gegenüber den anderen Immunkörpern des Serums genügend charakterisiert sind.

Zusammenfassung.

Die drei Wirkungen des Pneumokokkenserums: 1) die Schutzkraft im Mäuseversuch, 2) die Tropinwirkung im Reagenzglasversuch, 3) die phagocytosebefördernde Wirkung im Tierkörper werden vergleichend untersucht.

Ein mit einem typischen Pneumokokkenstamm gewonnenes hochwertiges Serum besaß alle drei Wirkungen gegenüber dem typischen, keine gegenüber dem atypischen, serumfesten Stamme.

Ein mit dem atypischen Stamm gewonnenes Serum wirkt umgekehrt ausschließlich auf den atypischen Stamm.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber die agglutinationsvermittelnde Funktion des Kreuzspinnengiftes.

Von Dr. **Aurel von Szily,**
Assistent an der Universitätsaugenklinik in Freiburg i. B.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Februar 1910.)

In einer vor einiger Zeit erschienenen Arbeit „Ueber die Reaktivierung von hämolytischem Immunserum durch Lösungen von Hämotoxinen und Kaltblütersera" berichten Landsteiner und Fürth[1]) über interessante Versuchsergebnisse, denen zufolge Hämotoxine auf Blutarten, welche ihnen gegenüber an und für sich resistent sind, durch die Vermittelung inaktivierter spezifischer Immunsera hämolytisch wirken. Zu den von den Autoren verwendeten Blutgiften gehört auch das Arachnolysin, das zuerst von Sachs[2]) beschriebene hämolytische Prinzip des Kreuzspinnengiftes. Landsteiner und Fürth geben an, daß die „aktivierende" Wirkung des Kreuzspinnengiftes durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° aufgehoben wird, und erwähnen nebenbei, daß bei dem durch Erwärmen inaktivierten Arachnolysin eine Agglutinationswirkung auf die mit hämolytischem Immunkörper versetzten Blutkörperchen zu bemerken ist. Die ausgesprochene Thermolabilität des von Landsteiner und Fürth beschriebenen „aktivierenden" Prinzips dürfte gegen eine Identifizierung desselben mit dem direkt wirkenden Hämotoxin zu sprechen geeignet sein; denn, wie wir durch die Untersuchungen von Sachs wissen, ist letzteres durch eine relativ hohe Stabilität thermischen Ein-

1) K. Landsteiner und J. Fürth, Wiener klin. Wochenschr., No. 7 (1909).

2) H. Sachs, Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol., Bd. 2 (1902).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

griffen gegenüber ausgezeichnet. In gleichem Sinne sind wir auch die Ergebnisse unserer Nachprüfung zu deuten geneigt. Wir konnten nämlich mit dem uns zur Verfügung stehenden Arachnolysinpräparat, das auf Kaninchenblut stark hämolytisch wirkte, eine Hämolyse von Hammelblut durch die Vermittelung spezifischen Immunserums nicht erzielen. Da es sich um eine schon vor längerer Zeit hergestellte Arachnolysinlösung handelte, so können wir darin keinen Gegensatz zu den von Landsteiner und Fürth erhobenen Befunden erblicken, da unsere Giftlösung durch das Lagern dieselbe Veränderung erfahren haben konnte, welche die genannten Autoren nach dem Erwärmen eintreten sahen [1]). Dem entspricht es auch, daß die von uns verwendete Giftlösung in Uebereinstimmung mit der von Landsteiner und Fürth beim „inaktivierten" Arachnolysin beobachteten Erscheinung bereits im nativen Zustande Hammelblut unter Mitwirkung von Immunserum agglutinierte. Gerade diese Agglutinationswirkung trat mit unserem Arachnolysinpräparat so markant und in so außerordentlicher Stärke in Erscheinung, daß wir sie bei dem Interesse, welche dieses durch das Zusammenwirken zweier Komponenten resultierende Agglutinationsphänomen darbot, zum Gegenstand einer näheren Analyse wählten.

Es war natürlich an erster Stelle die Frage zu entscheiden, ob es sich wirklich um eine Kombinationswirkung handelte, oder ob der Agglutinationseffekt nicht etwa durch Summation eine hinreichende Erklärung finden könnte. Allerdings zeigte es sich gleich in den ersten orientierenden Versuchen, daß das Arachnolysin auch in großen Dosen eine wahrnehmbare Alteration des Hammelblutes nicht bewirkt. Das inaktive Hammelblutimmunserum dagegen bedingt in größeren Mengen eine Agglutination des Hammelblutes, die

---

1) Landsteiner und Fürth haben in einer nachträglichen Bemerkung zu ihrer Mitteilung [Wiener klin. Wochenschr., No. 17 (1909)] angegeben, daß sie selbst die Versuche nicht wieder reproduzieren konnten. Sie weisen auch darauf hin, daß die Inaktivierungstemperatur der von ihnen zur Aktivierung benutzten Giftlösungen erheblich niedriger ist, als diejenige der darin enthaltenen Hämolysine und glauben, daß noch in der Blutemulsion vorhandene Serumbestandteile für diejenigen Versuche, in denen eine Aktivierung gelang, verantwortlich zu machen sein dürften.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich jedoch durch den schwachen Grad sehr markant von der aus dem Zusammenwirken mit dem Arachnolysin resultierenden starken Zusammenballung der Erythrocyten unterscheiden läßt. Zudem gelingt es leicht, mit Immunserummengen, die jeglicher Agglutinationswirkung ermangeln, durch Arachnolysinzusatz das gleiche Phänomen zu erzielen.

In diesem wie in den folgenden Versuchen wurde in der Weise verfahren, daß die Versuchsröhrchen 2 Stunden im Brutschrank stehen blieben und sodann über Nacht im Eisschrank aufbewahrt wurden. Die Versuchsergebnisse wurden in der Weise beurteilt, daß die Röhrchen stark aufgeschüttelt wurden. Es ergab sich dann bei der nach einigen Minuten vorgenommenen Beobachtung ein einfach abzulesender Grenzwert, indem die stark agglutinierten Blutkörperchen sich sehr rasch senkten. Die schwächeren Agglutinationsgrade wurden abgeschätzt; sie sind für die hier mitgeteilten Versuche nicht sehr wesentlich, weil der oben bezeichnete Grenzwert sehr markant eine hinreichende quantitative Beurteilung gestattete. In den folgenden Tabellen bedeuten demnach:

++++ maximale Agglutination.
+++, ++, + } schwächere Agglutinationsgrade.
? zweifelhafte Agglutination.
0 keine Agglutination.

Zur Demonstration des Zusammenwirkens von Arachnolysin und Immunserum sei folgendes Versuchsbeispiel angeführt:

Es wurden 4 Versuchsreihen angestellt: jede enthielt absteigende Mengen des vom Kaninchen durch Vorbehandeln mit Hammelblut gewonnenen inaktivierten Immunserums, mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm Volumen aufgefüllt. Dazu kamen je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung[1]).

Außerdem enthielt jedes Röhrchen der Reihe:

a) 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung.
b) 0,2 ccm 10-fach verdünnten Arachnolysins.
c) 0,2 ccm 50-fach verdünnten Arachnolysins.
d) 0,2 ccm 100-fach verdünnten Arachnolysins.

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

---

1) Die Hammelblutaufschwemmung war in allen Versuchen etwa 7—8 Proz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Mengen des Immunserums ccm	Agglutination von Hammelblut durch absteigende Mengen Immunserums unter Zusatz von			
	a) 0,2 ccm phys. NaCl-Lösung	Arachnolysin		
		b) 0,02 ccm	c) 0,004 ccm	d) 0,002 ccm
0,1	++	++++	++++	++++
0,05	+	++++	++++	++++
0,025	?	++++	++++	++++
0,015	0	++++	++++	++++
0,01	0	++++	++++	?
0,005	0	++++	++++	0
0,0025	0	++++	++++	0
0,0015	0	++++	++	0
0 001	0	++++	++	0
0,0005	0	++	?	0
0,00025	0	0	0	0

Die Tabelle illustriert die außerordentliche Agglutinationskraft, welche das Zusammenwirken der beiden Faktoren zur Folge hat, und schließt gleichzeitig die Möglichkeit einer Summationserscheinung vollkommen aus. Denn es ist ersichtlich, daß noch der 50. Teil derjenigen Immunserummenge, welche an und für sich nur geringgradig agglutiniert, durch den Arachnolysinzusatz zu hoher Wirksamkeit gelangt, während dem Arachnolysin allein ein wahrnehmbarer Einfluß überhaupt fehlt. Gleichzeitig erlaubt Tabelle I den Schluß, daß mit steigenden Immunserumdosen die zur Agglutination ausreichende Arachnolysinmenge geringer wird und umgekehrt.

Die weitere Analyse mußte sich vornehmlich auf zwei Fragen erstrecken, welche einmal die Art der Arachnolysinwirkung, dann aber die Beziehungen des die Agglutination vermittelnden Bestandteils zu dem hämolytischen Toxin betrafen. Man hätte von vornherein annehmen können, daß es sich um eine komplementartige Funktion des Arachnolysins handelt, wie ja auch Landsteiner und Fürth die von ihnen beobachtete Hämolyse als Folge einer Reaktivierung des Immunserums durch das Arachnolysin aufzufassen geneigt sind. Es wurde daher zunächst der Einfluß der Temperatur auf die

Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

die Agglutination befördernde Wirkung des Arachnolysins untersucht.

10-fach verdünnte Arachnolysinproben wurden im Wasserbade $^1/_2$ Stunde lang auf 60°, 65° bis 70° erhitzt. Sodann wurde die Wirksamkeit der erhitzten Lösungen und des nativen Arachnolysins bestimmt, indem absteigende Mengen mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung und je 0,15 ccm des 10-fach verdünnten Immunserums digeriert wurden (vergl. Tabelle II).

Gleichzeitig wurde die hämolytische Wirkung durch Digerieren absteigender Mengen der Giftlösungen mit je 1 ccm 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung ermittelt (s. Tabelle III).

Tabelle II.

Mengen des Arachnolysins ccm	Agglutination von Hammelblut durch das Zusammenwirken von je 0,015 ccm Immunserum und absteigende Mengen des Arachnolysins; letzteres			
	a) nativ	erhitzt auf:		
		b) 60°	c) 65°	d) 70°
0,1	++++	++++	++++	++++
0,05	++++	++++	++++	++++
0,025	++++	++++	++++	?
0,015	++++	++++	++++	0
0,01	++++	++++	++++	0
0,005	++++	++++	0	0
0,0025	++++	?	0	0
0,0015	++	0	0	0
0,001	?	0	0	0
0	0	0	0	0

Tabelle III.

Mengen des Arachnolysins ccm	Hämolyse von 1 ccm 5-proz. Kaninchenblut durch Arachnolysin			
	a) nativ	erhitzt auf:		
		b) 60°	c) 65°	d) 70°
0,1	komplett	komplett	fast komplett	wenig
0,05	„	„	stark	„
0,025	„	„	„	„
0,015	„	„	mäßig	„
0,01	„	„	„	Spur
0,005	„	„	wenig	„
0,0025	„	fast komplett	„	Spürchen
0,0015	„	stark	Spur	„
0,001	fast komplett	mäßig	Spürchen	0
0	0	0	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den Tabellen ergibt sich, daß die agglutinationsbefördernde Wirkung des Arachnolysins eine etwa gleiche Thermolabilität aufweist, wie sie für die lytische Komponente bereits durch Sachs festgestellt wurde. Beide Funktionen werden durch Temperaturen bis 60° nur unwesentlich geschwächt, und selbst beim Erwärmen auf 70° bleibt noch ein geringer Teil ihrer Wirkung erhalten. Man könnte daher aus dem Verhalten gegenüber thermischem Einfluß schließen, daß es sich bei den beiden Funktionen um die Wirkung eines einheitlichen Bestandteils der Giftlösung handelte, eine Annahme, die aber, wie wir sehen werden, nicht zutrifft.

Für die Frage nach der etwaigen Komplementnatur der die Agglutination vermittelnden Komponente ist die relative Thermostabilität belanglos, da ja seit den Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth Angaben über thermostabile Komplemente vorliegen. Maßgebend für die Charakterisierung als Komplement muß daher vor allem das Studium der Bindungsverhältnisse sein. Komplemente werden im Gegensatz zu den Ambozeptoren nicht direkt von den Blutzellen, auf die sie wirken, gebunden, und man kann wohl als Postulat für die Auffassung einer unbekannten Komponente als Komplement aufstellen, daß die mit ihr vorbehandelten Zellelemente sich in ihrem Verhalten gegenüber der zweiten Komponente von den normalen nicht unterschieden. Dies trifft nun in unserem Falle nicht zu. Der die Agglutination vermittelnde Bestandteil des Arachnolysins wird von den intakten Hammelblutkörperchen aufgenommen, und die derart vorbehandelten Blutzellen werden von dem inaktiven Immunserum in der oben beschriebenen Weise agglutiniert. Zur Demonstration dieser Tatsache wurde folgendermaßen verfahren:

Absteigende Mengen von Arachnolysin wurden mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung 1 Stunde bei 37° digeriert; sodann wurde zentrifugiert.

a) Die Flüssigkeiten wurden auf die Sedimente von je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung abgegossen, denen noch je 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums zugesetzt wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Die Sedimente wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, nochmals abzentrifugiert und unter Zusatz von 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums in 1,75 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

c) Kontrollversuch: Absteigende Mengen Arachnolysins wurden mit je 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums und 1 ccm Hammelblutaufschwemmung gemischt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Mengen der 20-fach verdünnten Arachnolysinlösung ccm	Agglutination von Hammelblut durch 0,0075 ccm Immunserum + Arachnolysin		
	a) nach Vorbehandlung mit Hammelblut	b) nach vorheriger Bindung an das Hammelblut	c) nativ (Kontrolle)
1,0	++++	++++	++++
0,5	++++	++++	++++
0,25	++++	++++	++++
0,15	++++	++++	++++
0,1	++++	++++	++++
0,05	++++	++++	++++
0,025	++	++++	++++
0,015	?	++++	++++
0,01	0	++++	+++
0,005	0	++	++
0,0025	0	+	?
0	0	0	0

Als wichtigstes Ergebnis geht aus der Tabelle hervor, daß die an der Agglutination beteiligte Komponente des Arachnolysins von den Hammelblutkörperchen direkt gebunden wird. Die Wirkung ist dabei eher noch eine stärkere als beim gleichzeitigen Mischen von Immunserum, Arachnolysin und Blut.

Die nähere Analyse des Bindungsvorganges hat ergeben, daß die Bindung bei 37° sehr rasch beginnt und innerhalb 30—40 Minuten vollständig wird, bei 0° ist sie hingegen sehr erheblich verzögert und bei Verwendung der 2—3-fach wirksamen Dosis innerhalb $1^1/_2$ Stunden nicht nachweisbar.

Wir können es unterlassen, die Versuche anzuführen, nach denen auch das im Immunserum enthaltene wirksame Prinzip von den Blutkörperchen verankert wird, und möchten nur erwähnen, daß dies, wie von vornherein zu erwarten, der Fall

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ist. Es ergibt sich somit die interessante Tatsache, daß bei der durch das Zusammenwirken von Immunserum und Arachnolysin entstehenden Agglutination jede der beiden Komponenten an und für sich von den roten Blutkörperchen aufgenommen wird. Wir haben es also hier mit der eigenartigen Erscheinung zu tun, daß zwei Substanzen vollkommen unabhängig voneinander die Blutzellen angreifen, ohne eine äußerlich erkenntliche Alteration zu bewirken. Die Veränderung der Blutbeschaffenheit dokumentiert sich erst darin, daß die Blutzellen durch die Bindung der einen Komponente für die andere agglutinabel werden. Das Wechselseitige dieses Prozesses läßt aber die Annahme mit Sicherheit ausschließen, daß es sich bei dem hier beschriebenen, durch außergewöhnliche Intensität ausgezeichneten Agglutinationsphänomen um einen dem Mechanismus der Ambozeptor-Komplementwirkung folgenden Vorgang handelt. Die in der Kreuzspinnengiftlösung enthaltene Komponente kann demnach nicht als komplementartig bezeichnet werden.

Die Tatsache, daß das bei der Agglutination wirksame Prinzip des Kreuzspinnengiftes von den Hammelblutkörperchen gebunden wird, ließ es bereits wahrscheinlich erscheinen, daß es sich nicht um eine Funktion des eigentlichen hämolytischen Giftes, des Arachnolysins, handelte. Denn wie bereits Sachs gezeigt hat, wird das Arachnolysin nur von den empfindlichen Erythrocyten gebunden, während es von unempfindlichen Blutarten, zu denen auch das Hammelblut gehört, intakt in der Lösung belassen wird. Die Erwartung, durch den Bindungsversuch zu einer Differenzierung zweier Komponenten in der Giftlösung, einer hämolytischen und einer die Agglutination vermittelnden, zu gelangen, hat sich auch in der Tat bestätigt, und ich lasse zur Demonstration ein Versuchsbeispiel folgen.

Das Sediment von 10 ccm Hammelblut wurde mit 5 ccm 200-fach verdünnter Arachnolysinlösung 2 Stunden lang bei 37° digeriert. Sodann wurde zentrifugiert und der Abguß in folgender Weise geprüft: Absteigende Mengen wurden einerseits mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von je 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums, andererseits mit je 1 ccm 5-proz. Kaninchenblut gemischt. Entsprechende Kontrollen enthielten statt des Abgusses die native Giftlösung. Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Mengen der 200-fach verdünnten Arachnolysinlösung ccm	Agglutination von Hammelblut durch 0,0075 ccm Immunserum und Arachnolysin		Hämolyse von Kaninchenblut durch Arachnolysin	
	a) nativ	b) nach Absorption durch Hammelblut	a) nativ	b) nach Absorption durch Hammelblut
1,0	++++	0	komplett	komplett
0,5	++++	0	„	„
0,25	++++	0	„	„
0,15	++++	0	fast komplett	fast komplett
0,1	?	0	stark	stark
0,05	0	0	wenig	wenig
0,025	0	0	Spur	Spur
0,015	0	0	Spürchen	Spürchen
0,01	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich mit Deutlichkeit, daß durch die Behandlung der Giftlösung mit Hammelblut die die Agglutination vermittelnde Wirkung aufgehoben ist, während die lytische Giftkomponente vollkommen intakt bleibt. Wenn auch für die ausreichende Absorption des zur Agglutination erforderlichen Prinzips, wie besondere Versuche zeigten, ein nicht unerheblicher Blutüberschuß erforderlich ist, so geht aus dem obigen Versuchsergebnis doch zur Genüge hervor, daß die hämolytische und agglutinierende Wirkung an zwei verschiedene Substanzen gebunden ist, daß mithin die zur Agglutination führende Kraft der Kreuzspinnengiftlösung nichts mit dem eigentlichen „Arachnolysin“ zu tun hat.

Es wurde ferner versucht, durch Alkoholfraktionierung der Giftlösung einigen Aufschluß über die Natur der wirksamen Stoffe zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurde folgendermaßen verfahren:

5 ccm Kreuzspinnengiftlösung wurden mit 50 ccm Alkohol 1 Stunde lang geschüttelt, sodann wurde durch ein gehärtetes Filter filtriert. Der Filterrückstand wurde in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, das Filtrat im Vakuum destilliert und der Rückstand gleichfalls in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Die so erhaltenen Flüssigkeiten wurden auf agglutinierende und hämolytische Wirkung geprüft. Das Ergebnis ist in Tabelle VI notiert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

A.

Mengen der Arachnolysinlösung ccm	Agglutination von Hammelblut durch 0,0075 ccm Immunserum und Arachnolysin		
	a) natives Arachnolysin	b) Alkohol-niederschlag	c) Alkohol-extrakt
0,01	++++	++++	0
0,005	++++	++++	0
0,0025	++++	++++	0
0,0015	++++	++++	0
0,001	++++	++++	0
0,0005	++++	++++	0
0,00025	?	?	0
0	0	0	0

B.

Mengen der Arachnolysinlösung ccm	Hämolyse von 1 ccm 5-proz. Kaninchenblut durch Arachnolysin		
	a) natives Arachnolysin	b) Alkohol-niederschlag	c) Alkohol-extrakt
0,025	komplett	stark	0
0,015	„	„	0
0,01	„	„	0
0,005	„	mäßig	0
0,0025	„	wenig	0
0,0015	fast komplett	Spur	0
0,001	stark	Spürchen	0
0,0005	mäßig	0	0
0,00025	wenig	0	0

Auch aus diesem Versuche ergibt sich immerhin ein differentes Verhalten der beiden Komponenten. Zwar ist weder die eine noch die andere alkohollöslich, beide werden mit der Eiweißfraktion gefällt; während aber das Agglutinationsprinzip quantitativ im Alkoholniederschlag wiedergefunden wird, ist durch die Alkoholbehandlung bereits ein beträchtlicher Teil des „Arachnolysins“ zerstört worden.

Von besonderem Interesse erschien nun die Frage, ob dem die Agglutination bewirkenden Prinzip ebenso wie dem „Arachnolysin“ Antigennatur zukommt. Es wurden daher Kaninchen, die sich nach den Erfahrungen von Sachs zur Gewinnung von Antikörpern des Arachnolysins gut eignen, mit Kreuzspinnengift vorbehandelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Indes stießen diese Versuche insofern auf eine Schwierigkeit, als sich zeigte, daß bereits normale Sera das Agglutinationsphänomen in hohem Maße beeinflussen.

Absteigende Mengen normalen Kaninchenserums wurden mit je 0,2 ccm 50-fach verdünnter Arachnolysinlösung ½ Stunde lang bei Zimmertemperatur digeriert, sodann erfolgte Zusatz von je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums (Reihe A). In Reihe B wurden Serum und Arachnolysin in gleicher Weise digeriert, sodann wurde Hammelblut zugesetzt. Nach 1-stündigem Verweilen bei 37° wurden die Sedimente abzentrifugiert, mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit 1,75 ccm physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums aufgeschwemmt. Das Resultat zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Mengen des normalen Kaninchenserums ccm	Agglutination von Hammelblut durch 0,0075 ccm Immunserum und 0,004 ccm Arachnolysin, nach Einwirkung normalen Kaninchenserums	
	Reihe A	Reihe B
0,1	0	0
0,05	0	0
0,025	0	?
0,015	?	++++
0,01	++++	++++
0	++++	++++

Die Tabelle veranschaulicht einerseits die recht erhebliche Hemmung, welche die Agglutinationswirkung durch das normale Serum erfährt, andererseits die Tatsache, daß dieser antagonistische Einfluß wesentlich in der Verhinderung der Bindung des wirksamen Prinzips der Kreuzspinnengiftlösung besteht. Auch hierin zeigt sich demnach ein eklatanter Unterschied zu dem Verhalten des „Arachnolysins", das, wie bereits Sachs gezeigt hat und ich bestätigen konnte, durch normales Kaninchenserum in keiner Weise beeinflußt wird.

Was die Natur der hemmenden Stoffe des Kaninchenserums anlangt, so führte bereits die Analyse mittels Alkoholfällung zu der Anschauung, daß es sich hier nicht um eine Wirkung normaler Antikörper handelte; es zeigte sich nämlich, daß die wirksamen Stoffe alkohollöslich sind, wie folgender Versuch lehrt:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5 ccm inaktiven normalen Kaninchenserums wurden mit 50 ccm Alkohol eine Stunde geschüttelt. Nach Filtration durch gehärtetes Filtrierpapier wurde der Niederschlag in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben, das Filtrat im Vakuum destilliert und der Rückstand in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Die agglutinationshemmende Wirkung wurde nach $^3/_4$-stündigem Digerieren von Arachnolysin und den gewonnenen Fraktionen durch Zusatz von Hammelblut und Immunserum bestimmt und ist in Tabelle VIII notiert.

Tabelle VIII.

Mengen des Kaninchenserums	Agglutination von Hammelblut durch 0,0075 ccm Immunserum mit Arachnolysin, nach vorherigem Digerieren des letzteren mit		
ccm	a) normalem Kaninchenserum	b) dem Alkoholniederschlag	c) dem Alkoholextrakt
0,25	0	++++	+
0,15	0	++++	+
0,1	0	++++	+
0,05	0	++++	+
0,025	0	++++	+
0,015	0	++++	+
0,01	+++	++++	++++
0,005	++++	++++	++++

Der Alkoholniederschlag besitzt demnach nicht die geringste hemmende Wirkung, während das Alkoholextrakt die starke Agglutinationswirkung auf ein Minimum reduziert. Die wirksamen Hemmungsstoffe des normalen Kaninchenserums dürften also zu den Lipoiden gehören; in einigen orientierenden Versuchen konnten in der Tat durch Lecithin- und Seifenlösungen Hemmungen der Agglutination erzielt werden.

Was nun die Wirkung des durch peritoneale Einverleibung vom Kaninchen erhaltenen Antiserums anlangt, so ließ sich eine Steigerung der bereits dem normalen Kaninchenserum zukommenden hemmenden Funktion nicht erzielen. Gleichwohl enthielt das Antiserum, wie folgender Versuch zeigt, reichliche Mengen von Antikörpern der hämolytischen Komponente.

Je 0,2 ccm 50-fach verdünnter Arachnolysinlösung wurden mit absteigenden Mengen

a) normalen Kaninchenserums,

b) des Antiserums

$^3/_4$ Stunden bei Zimmertemperatur digeriert. Sodann erfolgte Zusatz von je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,15 ccm 20-fach verdünnten Immunserums.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Derselbe Versuch wurde in der Weise vorgenommen, daß anstatt des Hammelbluts und Immunserums je 1 ccm 5-proz. Kaninchenblut hinzugefügt wurde (s. Tabelle IX).

Tabelle IX.

Mengen des normalen resp. Immunserums	Agglutination v. Hammelblut durch 0,005 ccm Immunserum und 0,004 ccm Arachnolysin, nach vorherigem Digerieren des letzteren mit		Hämolyse von Kaninchenblut durch 0,004 ccm Arachnolysin, nach vorherigem Digerieren d. letzteren mit	
ccm	a) normalem Kaninchenserum	b) Antiserum	a) normalem Kaninchenserum	b) Antiserum
0,25	0	0	komplett	0
0,15	0	0	„	0
0,1	0	+	„	0
0,05	+	++	„	0
0,025	+++	+++	„	0
0,015	++++	++++	„	0
0,01	++++	++++	„	0
0,005	++++	++++	„	wenig
0,0025	++++	++++	„	fast komplett
0,0015	++++	++++	„	komplett

Auch bei Variationen der Versuchsanordnung konnte eine die Wirkung des normalen Kaninchenserums übertreffende hemmende Funktion des Antiserums gegenüber dem agglutinationsvermittelnden Prinzip der Giftlösung nicht eruiert werden, so daß sich für die Antigennatur des letzteren ein Anhaltspunkt nicht ergeben hat. Es ist also auch darin ein markanter Unterschied zu dem Verhalten des „Arachnolysins“ begründet.

Resumieren wir die mitgeteilten Erfahrungen über das Zustandekommen des hier behandelten Phänomens, so ergibt sich, daß es sich um einen eigentümlichen Agglutinationsvorgang handelt, der durch das Zusammenwirken von spezifischen Antikörpern einerseits, einem Bestandteil der Kreuzspinnengiftlösung andererseits ausgelöst wird. Charakteristisch ist beim Fehlen aller Anhaltspunkte für die Antigennatur des im Kreuzspinnengift enthaltenen wirksamen Prinzips der Umstand, daß jede der beiden Komponenten direkt von den roten Blutkörperchen gebunden wird, ohne daß es für die eine der vorherigen Einwirkung der anderen bedarf. Dadurch unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

scheidet sich das Phänomen sehr wesentlich von den bisher bekannten Vorgängen, in denen ein Agglutinationseffekt aus dem Zusammenwirken mehrerer Stoffe resultiert. Wenn wir von den als durch Mitwirkung von Komplementen beschriebenen Agglutinationsvorgängen, sowie von der durch Moreschi bekannten Tatsache der Agglutinationsbeschleunigung und -verstärkung durch Antisera absehen, so handelt es sich besonders um die von Bordet und seinen Mitarbeitern studierten Vorgänge der „Konglutination". Man könnte auch bei dem von mir beschriebenen Phänomen von einer „Konglutination" sprechen, wenn dieser Name nicht bereits von Bordet und Streng[1]) für den von ihnen analysierten Vorgang eingeführt worden wäre, bei welchem die als „Konglutinine" bezeichneten Stoffe der normalen Sera erst auf die mit Ambozeptor und Komplement beladenen Zellen wirken. Es ist naheliegend, auch bei unserem Phänomen an eine serodiagnostische Verwertung zu denken, wie sie auch durch Streng[2]) für die sogenannte „Konglutination" angebahnt wurde. Denn es handelt sich ja auch hier darum, daß die Wirkung der Antikörper des Immunserums, welche sonst nur durch Vermittlung der hämolytischen Komplemente nachgewiesen werden können, durch das im Arachnolysin enthaltene Prinzip zum sinnfälligen Ausdruck gelangt. Wir neigen dabei der Annahme zu, daß die beteiligten Antikörper des Immunserums mit den Ambozeptoren identisch sind, ohne daß wir aber in der Lage sind, hierfür hinreichende Beweise zu erbringen.

Wenn wir zwar die praktische Verwertbarkeit des Phänomens zum Nachweis von Antikörpern in andersartigen Immunseris nicht weiter verfolgt haben, so konnten wir doch die gleiche Agglutinationserscheinung auch bei Verwendung von normalem ambozeptorhaltigen Serum erzielen. Die Versuche mußten zwar insofern auf eine Schwierigkeit stoßen, als bei dem geringen Ambozeptorgehalt der normalen Sera eine hemmende Wirkung der dadurch erforderlichen größeren Serumquantitäten zu erwarten war. In der Tat ist es auch nicht gelungen, durch Mischen normaler Sera mit Arachnolysin eine

1) J. Bordet et O. Streng, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 49 (1909), p. 260.

2) O. Streng, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 50, 1910, p. 47.

Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Agglutination zu erzielen, die als Kombinationswirkung hätte aufgefaßt werden können. Dagegen konnte die hemmende Wirkung des normalen Serums dadurch eliminiert werden, daß die Blutkörperchen zuerst mit dem Serum zwecks Bindung der Ambozeptoren digeriert wurden und erst zu den durch Zentrifugieren gewonnenen Blutsedimenten Arachnolysin zugefügt wurde. So trat bei Verwendung von Menschenserum und Arachnolysin starke Agglutination ein, wie folgendes Versuchsbeispiel zeigt:

Absteigende Mengen inaktivierten Menschenserums wurden in zwei Reihen (A und B) 1 Stunde bei 37° mit je 1,0 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert. Sodann wurden nach dem Zentrifugieren die Flüssigkeiten abgegossen, die Sedimente der Reihe A mit je 1,95 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, diejenigen der Reihe B mit je 1,75 ccm physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,2 ccm 10-fach verdünnter Arachnolysinlösung. Das Ergebnis zeigt Tabelle X.

Tabelle X.

Mengen des inaktiven Menschenserums ccm	Agglutination des mit Menschenserum vorbehandelten Hammelblutes	
	A allein	B bei Zusatz von 0,02 ccm Arachnolysin
0,75	0	++++
0,5	0	++++
0,25	0	++++
0,15	0	++++
0,1	0	+
0,05	0	?
0,025	0	0

Wie die Tabelle zeigt, gelingt es also, auch bei Verwendung normalen Serums das durch die vermittelnde Rolle des Arachnolysins charakterisierte Agglutinationsphänomen hervorzurufen[1]).

1) Es sei übrigens erwähnt, daß beim Mischen von Menschenserum mit Hammelblut in den ersten beiden Gliedern der Reihe eine Agglutinationswirkung wahrzunehmen war, die bei Zusatz von Arachnolysin nicht verstärkt wurde. Wie Tabelle X zeigt, ist diese Agglutination beim Trennen des Serums nach dessen 1-stündiger Einwirkung auf das Blut nicht mehr vorhanden. Es dürfte sich wohl um eine Abspaltung des gebundenen Agglutinins im Sinne Landsteiners und seiner Mitarbeiter handeln, und es spricht dieses Verhalten um so mehr dafür, daß der beschriebene Agglutinationsvorgang nichts mit den eigentlichen Agglutininen des Serums zu tun hat.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Worin die Wirkung der im Kreuzspinnengift enthaltenen Komponente bei dem behandelten Vorgang begründet ist, muß dahingestellt bleiben. Wir haben gesehen, daß die Vorbehandlung der Blutkörperchen mit der Giftlösung auch nach dem Entfernen der letzteren eine Alteration der Zellen hinterläßt, welche sich in der starken Agglutinabilität gegenüber dem Immunserum äußert, und haben daher von einer Bindung des wirksamen Prinzips gesprochen[1]). An welcher Stelle aber diese Bindung erfolgt, und wie sie funktionell aufzufassen ist, das sind Fragen, die vorläufig nicht entschieden werden können. Naheliegend wäre die Annahme, daß es sich um eine Einwirkung auf die agglutinable Substanz im Sinne einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber den sonst nicht wirksamen Antikörpern handelte, und wenn man, wie dies ja geschehen ist, zwischen einer agglutininbindenden und fällbaren Gruppe unterscheidet, daß eine Einwirkung auf die letztere dem Wesen der Arachnolysinwirkung entspräche.

Zusammenfassung.

1) Durch das Zusammenwirken von Kreuzspinnengiftlösung und inaktivem hämolytischen Immunserum wird eine außerordentlich starke Agglutination hervorgerufen.

2) Dem Kreuzspinnengift kommt dabei eine komplementartige Wirkung nicht zu; es wird vielmehr direkt von den roten Blutkörperchen gebunden.

3) Die wirksame Komponente des Kreuzspinnengiftes ist von dem eigentlichen lytischen Toxin, dem „Arachnolysin", verschieden.

Diese Differenz ergibt sich aus folgenden Eigenschaften des agglutinationsvermittelnden Prinzips:

---

1) Man könnte sich vielleicht auch vorstellen, daß die Giftlösung einen agglutinationshemmenden Bestandteil den roten Blutkörperchen entzieht, eine Vorstellung, die zwar nicht viel Wahrscheinlichkeit haben dürfte, aber immerhin konsequent durchzuführen wäre. Es sei in diesem Zusammenhange erwähnt, daß bereits Belonowski (Biochem. Zeitschr., Bd. 5, 1907, p. 70) bei Einwirkung des Arachnolysins auf Hammelblut mikroskopisch eine Alteration hat eintreten sehen, die er in dem Sinne beschreibt, daß aus den Blutzellen „viele kleine runde Körperchen heraustreten, während die Blutkörperchen selbst anscheinend ihre Form behalten".

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

a) Beim Behandeln der Giftlösung mit einer Blutart, welche dem „Arachnolysin“ gegenüber unempfindlich ist, wird die agglutinationsvermittelnde Komponente gebunden, während das „Arachnolysin“ unbeeinflußt bleibt. Thermischen Einflüssen gegenüber verhalten sich beide Stoffe etwa gleichsinnig.

b) Bei Fraktionierung der Giftlösung mittels Alkohol ist das zur Agglutination erforderliche Prinzip quantitativ im Alkoholniederschlag wiederzufinden. Das „Arachnolysin“, gleichfalls im Niederschlag enthalten, erfährt dabei eine nicht unerhebliche Einbusse seiner Wirkungskraft.

c) Das die Agglutination vermittelnde Prinzip unterscheidet sich auch dadurch vom „Arachnolysin“, daß es im Gegensatz zu letzterem durch normales Serum in seiner Wirkung stark gehemmt wird. Die hemmende Funktion kommt nur dem alkohollöslichen Teil des Serums zu.

d) Durch Vorbehandeln von Kaninchen mit Kreuzspinnengift wurde eine Verstärkung der bereits normaler Weise vorhandenen hemmenden Funktion nicht erzielt. Es konnten also Anhaltspunkte für die Antigennatur der die Agglutination vermittelnden Komponente nicht gewonnen werden.

4) Es handelt sich nach alledem um einen neuartigen Vorgang der Agglutination durch das Zusammenwirken zweier Komponenten, von denen jede direkt von den Zellen aufgenommen werden kann. Offenbar wirkt die im Kreuzspinnengift enthaltene Komponente derart auf die Blutzellen ein, daß sie der sonst nicht wahrnehmbaren Funktion von Antikörpern sinnfällig unterliegen. Die Identität der letzteren mit den Agglutininen erscheint wenig wahrscheinlich; ob sie mit den Ambozeptoren zu identifizieren sind, muß dahingestellt bleiben.

5) Das behandelte Agglutinationsphänomen dürfte bei der Kombination von Arachnolysin und spezifischen Antikörpern auch in anderen Fällen eintreten und daher vielleicht serodiagnostisch verwertbar sein. Es gelingt auch bei Verwendung normalen ambozeptorhaltigen Serums die gleiche Erscheinung hervorzurufen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der k. k. Universität Graz (Vorstand Prof. Dr. J. Kratter).]

Ueber die Verwertbarkeit des anaphylaktischen Temperatursturzes zur Größenbestimmung eines Ueberempfindlichkeitsshocks [1]).

Von Dr. **Sadanori Mita.**

Mit 5 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Februar 1910.)

I. Einleitung.

Es ist unzweifelhaft, daß die Beantwortung einer ganzen Reihe von theoretisch und praktisch wichtigen Fragen, die sich beim Studium der anaphylaktischen Erscheinungen täglich neu ergeben, mit von der Möglichkeit abhängt, dieses Phänomen mit Hilfe von quantitativen Arbeitsmethoden analysieren und in seine Details verfolgen zu können. Meines Wissens haben bisher nur R. Doerr und sein Mitarbeiter V. K. Russ mit Erfolg den Versuch gemacht, von diesem Gesichtspunkte aus eingehende Studien zu unternehmen. Was die aktive Ueberempfindlichkeit des Meerschweinchens anlangt, so beschränken sich ihre Studien zunächst darauf, festzustellen, welche Zeit bezw. welche Mengen der Vorbehandlung mit einer Serumart (Pferde- und Rinderserum) notwendig ist, um bei intravenöser Reinjektion 100 Proz. Todesfälle zu bekommen. Indem sie sich weiterhin in genau abgestuften Versuchen der Entscheidung der namentlich von Besredka und R. Kraus behaupteten Identität der sensibilisierenden und der den Shock auslösenden Serumkomponente und der Klärung anderer Fragen von höchstem theoretischen Interesse mit vollem Erfolge zuwenden, versuchen sie in ihren weiteren beiden Mitteilungen vor allem dahin zu gelangen, eine Maßmethode für den Gehalt eines aktiv anaphylaktischen Serums am anaphylaktischen

1) Ausgeführt mit Unterstützung der k. Akademie der Wissenschaften in Wien, aus dem Legate Wedl.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reaktionskörper zu bestimmen und gelangen namentlich durch diese musterhaft angeordneten und durchgeführten Versuche zur Bestätigung der schon von E. Friedberger aufgestellten Präzipitintheorie, die heute sowohl von der theoretischen wie experimentellen Seite her der am besten fundierte Erklärungsversuch der Ueberempfindlichkeitserscheinung ist. Der Weg, auf dem diese Maßmethoden gewonnen wurden, führte über die passive Anaphylaxie. Die Autoren injizierten eine Reihe von Meerschweinchen mit einer bestimmten Menge des zu untersuchenden anaphylaktischen oder präzipitierenden Serums intraperitoneal und prüften 24 Stunden später mit fallenden Dosen des korrespondierenden Eiweißantigens intravenös. In anderen Versuchsreihen behandelten sie mit fallenden Dosen eines Immunserums vor und reinjizierten mit konstanten Mengen Antigen gleichfalls intravenös. Auf einem dritten Wege gelangten sie endlich zu einer Abschätzung des Gehaltes eines Serums an anaphylaktischem Reaktionskörper, indem sie das Immunserum mit steigenden Mengen des zugehörigen Antigens in vitro versetzten, die Gemische intraperitoneal injizierten und am nächsten Tage mit intravenös applizierten, massiven Antigendosen prüften. Auf Grund dieser Versuche konnten sie als anaphylaktische Immuneinheit ein Serum vorschlagen, von dem 1,0 ccm intraperitoneal eingebracht, ein Meerschweinchen von 250 g so empfindlich machen, daß 0,2 ccm Serumantigen nach 24 Stunden intravenös nachinjiziert, gerade noch den akuten Tod auslösen.

Während also die erste der quantitativen Arbeitsmethoden von Doerr und Russ, welche die aktive Serumüberempfindlichkeit betrifft, lediglich die letal verlaufenden Fälle berücksichtigt, beschäftigen sich die zuletzt erwähnten ausschließlich mit der Bestimmung des anaphylaktischen Immunkörpers im Serum von überempfindlichen Meerschweinchen und das auf dem Wege der passiven Anaphylaxie.

Es mußte nun vom höchsten Interesse sein, 1) die Shockgrößen von solchen anaphylaktischen Tieren ziffernmäßig ausdrücken zu können, die nach leichten oder schwereren Erscheinungen überlebten und 2) neben dem nach Doerr und Russ analysierbaren Gehalt der Immunseren an Immunkörper die Reaktionsfähigkeit des Tierkörpers durch die Reaktions-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stärke im anaphylaktischen Shock bestimmen und messen zu können. Das erste schien namentlich im Hinblick auf manche praktische Anwendungsmöglichkeit der in Rede stehenden Erscheinung wichtig, so z. B., wie weiter unten ausgeführt werden soll, für die Bearbeitung der Organspezifität der Ueberempfindlichkeit, für die forensische Eiweißdifferenzierung auf dieser Basis u. a. m. Die zweite Richtung war deshalb wert, quantitativ näher verfolgt zu werden, weil es eine alte Erfahrungstatsache der Anaphylaxieforschung genannt werden muß, daß der Gehalt eines Immunserums an anaphylaktischem Reaktionskörper keineswegs immer Hand in Hand geht mit der Größe der im Tierversuch auslösbaren Krankheitserscheinungen, da ja Fälle bekannt geworden sind, wo das Serum von Tieren die Anaphylaxie passiv schon zu einer Zeit zu übertragen vermochte, in der durch die Einbringung des Antigens in den Serumspender die Krankheitserscheinungen nicht auslösbar waren [1]). So wertvoll also auch die von Doerr und Russ ausgearbeiteten Methoden genannt werden müssen und so fruchtbar sie sich auch schon bisher für die theoretische Auffassung der Ueberempfindlichkeit erwiesen haben, so mußte doch aus den hier angeführten Gründen danach gestrebt werden, an Stelle der heute üblichen, dem Ermessen des Einzelnen überlassenen recht ungenauen Größenbestimmung des anaphylaktischen Shocks in „keine Erscheinungen, leichte Erscheinungen, schwere Erscheinungen“ eine zahlenmäßige Bewertung zu setzen.

Dieser Forderung konnte aber nur auf Basis eines Symptoms entsprochen werden, das 1) dem persönlichen Gutdünken und der persönlichen Erfahrung und Uebung des Beobachters bis zu einem hohen Maße entzogen, also objektiv feststellbar war, 2) eine exakte Messung und dadurch einen ziffernmäßigen Ausdruck gestattete und endlich 3) auch jene so häufigen Fälle in die Beobachtung einzubeziehen ermöglichte, die von der einfachen, bisher allgemein gangbaren „klinischen Beobachtung“ als fehlende Anaphylaxie oder unter dem Schlagworte „leichte Symptome“ geführt wurden.

1) Vergl. dazu die jüngst mitgeteilten einschlägigen Versuche von E. Friedberger und J. L. Burckhardt (diese Zeitschrift, Bd. 4, Heft 5), die für das präanaphylaktische Stadium aktiv präparierter Tiere zur Negation dieser Befunde kommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach dem Stande unseres heutigen Wissens war die gleichzeitige Erreichung der genannten drei Ziele nur unter Benützung des von H. Pfeiffer beschriebenen anaphylaktischen Temperatursturzes möglich. Es konnte vor kurzem an dieser Stelle gezeigt und mit einem reichen Tatsachenmaterial auch experimentell erhärtet werden, wie man es dabei mit einem spezifischen und äußerst empfindlichen Symptom zu tun habe, welches, wie kürzlich auch E. Friedberger, E. Friedberger und J. L. Burckhardt, Braun bestätigten, den Nachweis von anaphylaktischen Krankheitserscheinungen noch unter Versuchsbedingungen gestattet, bei denen jede bisher bekannt gewordene andere Beobachtungsart im Stiche läßt. Was die erste der oben aufgestellten Forderungen anlangt, so ist die Methode der Körpermessung bei Meerschweinchen eine leicht erlernbare Technik, deren Resultate, in Kurvenform verzeichnet, als absolut objektiv feststellbar bezeichnet werden müssen. Ihre Ergebnisse sind weiterhin, da nach sehr zahlreichen einschlägigen Erfahrungen die Größe der anaphylaktischen Krankheitserscheinungen parallel geht mit der Größe der Temperaturabnahme, ziffernmäßig wiederzugeben, also meßbar und gestatten einen direkten Vergleich miteinander.

Endlich waren, was hier besonders ins Gewicht fällt, auch in ganz leichten Fällen immer oder auch bei scheinbar negativen Ergebnissen der einfachen klinischen Beobachtung sehr häufig noch Ausschläge von solcher Größe zu verzeichnen, daß daraus nicht nur noch die sichere Diagnose „anaphylaktischer Shock“ zu stellen war, sondern auch in dem Grade der Temperaturabnahme und in der Zeitdauer dieser ein ziffernmäßiger Ausdruck, eine Größenbestimmung des anaphylaktischen Symptomenbildes gewonnen werden konnte. Auf diese Tatsachen hat H. Pfeiffer in seinem Vortrage auf der Naturforscherversammlung zu Salzburg im Herbste 1909 flüchtig hingewiesen und auch eine Formel zur Größenbestimmung einerseits der Shockgröße, andererseits der daraus ableitbaren Anaphylaxiegröße aufgestellt. Gegenstand der nunmehr folgenden Darstellung soll es sein, an dem bis jetzt vorliegenden, zum Teil schon in anderer Beziehung mitgeteilten experimentellen Material die Brauchbarkeit der Methodik

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

für die Wertbestimmung einer aktiven Anaphylaxie aus der ziffernmäßigen Darstellung der Shockgröße bei der Reinjektion zu erweisen.

Hinsichtlich der Versuchstechnik möchte ich auch heute wieder betonen, daß die im nachstehenden angeführten Versuche, soweit dies nicht besonders angegeben wurde, an erwachsenen, über 350 g schweren Meerschweinchen mit vorher inaktivierten Antigenmengen durchgeführt wurden, die bei unvorbehandelten Kontrollen entweder die Temperatur gar nicht oder nur in ganz geringem Maße herabzusetzen vermochten. Wo in den später wiederzugebenden Tabellen Temperaturabnahmen und Shockgrößen ziffernmäßig eingesetzt sind, wurden immer schon, wie dies weiter unten des näheren ausgeführt werden wird, eventuell beobachtete Reaktionsgrößen des unvorbehandelten Tieres, die also nicht auf Rechnung der Ueberempfindlichkeit gesetzt werden dürfen, abgezogen, so daß die angeführten Shockgrößen einen direkten mathematischen Ausdruck des anaphylaktischen Shockes darstellen. Hinsichtlich aller anderen Details, sowohl was die Wesenheit des anaphylaktischen Temperatursturzes, als auch die Versuchstechnik anlangt, verweise ich auf H. Pfeiffers und meine Mitteilung in dieser Zeitschrift und auf die versuchstechnischen Bemerkungen des Erstgenannten in der Wiener klinischen Wochenschrift, 1909.

II. Bestimmung der Se-Größe.

Bei einem Versuchsmaterial von weit über tausend einzelnen Beobachtungen konnte zunächst immer wieder in derselben Weise die Beobachtung gemacht werden, daß in jenen Fällen, wo ein tödlicher Ausgang des anaphylaktischen Shocks nicht eintrat, ein absoluter Parallelismus bestand zwischen der Schwere der bei einfacher Beobachtung erkennbaren Symptome und zwischen der Größe der Temperaturabnahme, so zwar, daß, ganz allgemein ausgedrückt, je tiefer die Eigenwärme des Tieres unter die normale Ausgangstemperatur abfiel, auch das allgemeine Krankheitsbild ein um so schwereres war. Dieses Hand-in-Hand-gehen der Erscheinungen wird ohne weiteres verständlich, wenn man sich an die Versuche von Biedl und Kraus erinnert, welche für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Serumüberempfindlichkeit des Hundes nachweisen konnten, daß die (jedenfalls auch den anaphylaktischen Temperatursturz bedingende) Blutdrucksenkung im anaphylaktischen Shock das gesamte Krankheitsbild bedingt, also im Mittelpunkte aller Erscheinungen steht. Von den zahlreichen einschlägigen Beobachtungen sei zum Belege des oben Gesagten nur die nachstehende Versuchsreihe in Tabelle I wiedergegeben, die mit inaktivem Pferdeserum in den angegebenen Versuchsmengen gewonnen wurde. Bei konstanten Mengen der Vorbehandlung (0,01 ccm intraperitoneal) und einem konstanten Intervall wurde hier die allmähliche Steigerung in den Erscheinungen durch eine Vermehrung der Antigendosis bei der Reinjektion erreicht.

Tabelle I.

Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion Pferdeserum	Temperaturabnahme	Zeit	Erscheinung	Exitus
0	—	0,5	0	0	keine	—
0	—	1,0	0	0	„	—
0	—	1,5	0	0	„	—
0	—	2,0	0	0	„	—
0	—	2,5	5	30	„	—
0,01 Pferde-S.	21	0,5	8	180	„	—
0,01 „	21	1,0	30	270	„	—
0,01 „	21	1,5	35	270	vage Mattigkeit	—
0,01 „	21	2.0	73	300	Mattigkeit, undeutliche nervöse Erschein. im Temperaturminimum	—
0,01 „	21	2,5	75	90 †	Sehr schwere Ersch.	†

Aus dieser Tabelle können wir, was durch zahlreiche andere Versuchsreihen sich immer wieder bestätigte, die folgenden Schlußfolgeruugen ziehen:

1) Daß nach Maßgabe des Größerwerdens des anaphylaktischen Temperatursturzes auch die Allgemeinerscheinungen zuerst deutlich, dann schwerer werden;

2) wie diese erst unter Versuchsbedingungen eben bemerkbar werden, bei denen mit Benützung der Temperaturmessung schon längst der Nachweis des anaphylaktischen Shockes in exakter Weise möglich war. Denn deutliche Allgemeinerscheinungen traten in unseren Versuchsreihen immer erst bei Temperaturerniedrigungen von mehr als 3,5° C auf,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einen langsamen Verlauf des anaphylaktischen Shockes vorausgesetzt. Endlich kann man

3) ersehen — worauf ich hier ein besonderes Gewicht legen möchte! — wie mit dem Größerwerden der Temperaturabnahmen auch die Zeit beträchtlich wächst, welche nötig ist, damit ein Tier seine Ausgangstemperatur wieder erreicht, also bis zum Augenblicke völliger Erholung.

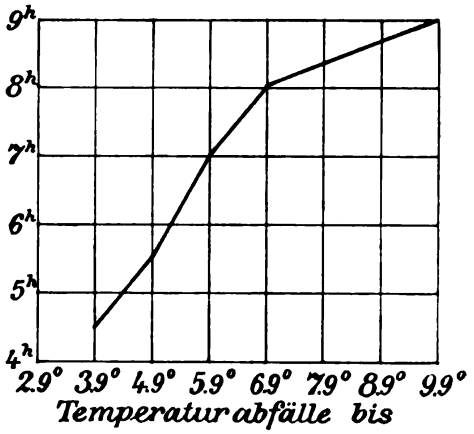
Um diese für die Gewinnung eines mathematischen Ausdruckes der Shockgröße so wichtige Beziehung besser zu veranschaulichen, wurde in Tabelle II und Kurve 1 eine Zahl

Tabelle II.

Beziehung zwischen der Größe von Temperaturstürzen und der notwendigen Zeit der Erholung.

Bei Abnahmen von Zehntelgraden	Erholung durchschnittlich in	Zahl der Fälle
30—39	4½ Stunden	4
39—49	5½ „	14
49—59	7 „	3
59—69	8 „	7
69—79	—	—
79—89	—	—
89—99	9 Stunden	1

von 29 in Erholung ausgehenden Fällen in der Weise geordnet, daß die gemessenen anaphylaktischen Temperaturstürze annähernd derselben Größe bei der Reinjektion in Gruppen gebracht und aus der Zeit, welche die gleich stark erkrankten Tiere bis zur völligen Erholung, also bis zum Wiedereintritt in die Ausgangstemperatur, der Durchschnitt genommen wurde. Dabei zeigt sich wieder, wie mit dem Ansteigen der Shockgröße, also mit dem



Kurve 1. Beziehung zwischen der Größe der Temperaturstürze und der notwendigen Zeit der Erholung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Größerwerden der Temperaturabnahme Hand in Hand auch die Erholungszeit anwächst, so daß wir diese Beziehung in der vorstehenden Kurve ausdrücken können (Kurve 1).

Es mußten demnach, um zu einem Maß eines mit Erholung endigenden anaphylaktischen Shockes zu gelangen, vornehmlich zwei Faktoren berücksichtigt werden, die beide zu der Shockgröße direkt proportional sind: die Größe der Temperaturabnahme und die Länge der Zeit, welche, vom Augenblicke der Injektion an gerechnet, verstreicht, bis völlige Erholung eingetreten ist. Dieser Augenblick läßt sich erfahrungsgemäß genau feststellen durch den Zeitmoment, wo die Ausgangstemperatur wieder erreicht ist. Berücksichtigt man weiterhin die Form der durch fortgesetzte und genaue rektale Messung erhaltenen und zum Teil in den „Studien über Eiweißanaphylaxie" veröffentlichten Temperaturkurven, so wird man finden, daß sie im allgemeinen Dreiecksform besitzen, d. h. daß sich an einem steil abfallenden Schenkel einer rapiden Temperatursenkung immer ein mehr weniger steil ansteigender Schenkel der Rückkehr zur Ausgangstemperatur unmittelbar anschließt. Nimmt man weiterhin die Verbindungslinie zwischen der Eintragung der Ausgangstemperatur und jenem Punkte, an welchem diese erreicht wurde, so ergibt sich die Basis für dieses Dreieck, die zugleich ein genauer Ausdruck für die Länge der Zeitdauer des anaphylaktischen Shockes ist. Es kann demnach mit hinreichender Genauigkeit die Größe der Erkrankung, die bei überlebenden Fällen parallel geht der Größe der Temperaturabnahme und durch sie einen ziffernmäßigen Ausdruck erfährt, gemessen werden, durch den Flächeninhalt eines Dreieckes, dessen Basis die Zeitdauer des anaphylaktischen Shockes, dessen Höhe die Größe der Temperaturabnahme ist.

Da wir bei Berechnung der Shockgröße an sich ihre Beziehung zum Gewicht des Tieres, der Antigenmenge der ersten Injektion, der Zeit, welche zwischen dieser und der Probeinjektion verstrichen ist, sowie die individuelle Empfindlichkeit nicht zu berücksichtigen haben, uns die Miteinbeziehung dieser Größe vielmehr zur Aufstellung einer Formel für die Anaphylaxiegröße führen würde, so konnte H. Pfeiffer zu

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Formel gelangen: Shockgröße (Se) ist gleich dem halben Produkt aus der Größe der Temperatur (ta) und der Zeitdauer der anaphylaktischen Erkrankung (Z),

$$Se = \frac{ta \cdot Z}{2}.$$

Um nicht mit Dezimalen arbeiten zu müssen, hat es sich als vorteilhaft herausgestellt, dabei als Einheit für ta = 0,1° C, für Z = 1 Minute zu wählen, so daß bei einem anaphylaktischen Shock, welcher zu einer Temperaturerniedrigung geführt hätte von 4,5° C und bei dem die Ausgangstemperatur erst nach 3 Stunden wieder erreicht worden wäre, die Shockgröße gleich wäre: $S = \frac{45 \cdot 180}{2} = 4050$.

Wie ich gleich ausdrücklich betonen muß, hat die hier aufgestellte Formel nur Giltigkeit für Fälle, welche mit Erholung enden, weil nur hier die Beziehungen zwischen Shockgröße einerseits und Temperaturabnahme sowie Zeitdauer der Erkrankung andererseits so einfache sind. Sie gestalten sich wesentlich anders und komplizierter, wenn im Ablaufe der Erkrankung ein tödlicher Ausgang erfolgt, was später ausführlich besprochen werden soll.

Es ist deshalb nicht nur zweckmäßig, sondern sogar notwendig, zwischen beiden Ausgängen zu unterscheiden, so daß man, wie dies oben geschehen ist, derartige Shockgrößen vielleicht durch das Zeichen Se charakterisiert und sie von anaphylaktischen Erkrankungen, die mit dem Tode enden (S†), unterscheiden könnte.

Der praktischen Anwendung der oben aufgestellten Fälle zur Berechnung anaphylaktischer Shockgrößen im allgemeinen stellt sich noch eine weitere Schwierigkeit entgegen im toxischen Eigenvermögen, das gewissen, auf das Meerschweinchen stark giftig wirkenden Antigenen zukommt. Wie H. Pfeiffer zuerst nachgewiesen hat, vermögen gewisse, auf die Meerschweincherythrozyten stark hämolytisch wirkende Seren (z. B. Rinder-Menschenserum) bei intraperitonealer Einverleibung in aktivem Zustande die Eigenwärme auch unvorbehandelter Tiere in nicht unbeträchtlicher, aber unspezifischer Weise herabzusetzen. Dieser Autor hat nun, jüngst wieder in Gemeinschaft mit mir, gezeigt, wie diese unspezifische

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkung prinzipiell von dem anaphylaktischen Temperatursturz zu trennen sei, der, streng spezifisch wie alle echten Immunitätserscheinungen, nur dann eintritt, wenn ein im Zustande der Ueberempfindlichkeit stehendes Tier mit dem Antigen der Vorbehandlung reinjiziert wird. H. Pfeiffer hat weiterhin gezeigt, wie durch eine vollständige Zerstörung des hämolytischen Komplementes durch Erhitzen auf 57° C und durch Verwendung größerer Tiere diese Fehlerquelle für die bei der Auslösung des anaphylaktischen Shockes in Betracht kommenden Antigenmengen völlig ausgeschaltet oder doch auf ein solches Minimum herabgedrückt werden kann, daß Verwechslungen mit anaphylaktischen Temperaturerniedrigungen bei einiger Uebung in der Versuchstechnik nicht mehr möglich sind. Da aber immerhin gewisse, wenn auch durch 1—2 Stunden auf 57° erhitzte Seren selbst bei unvorbehandelten und erwachsenen Tieren und bei Anwendung aller Vorsicht Temperaturabnahmen um einige Zehntelgrade bewirken können, die zwar für die praktische Antigendiagnose als Fehlerquellen nicht mehr in Betracht kommen können, wohl aber in einer exakten Darstellung der Shockgrößen Berücksichtigung erfahren müssen, so ist es in einschlägigen Fällen notwendig, folgendermaßen vorzugehen:

Als Beispiel wählte ich in Tabelle III ein Rinderserum, welches bei 57° zweimal durch 1 Stunde erhitzt wurde, nach dieser Zeit an sich Meerschweinchenerythrocyten nicht mehr

Tabelle III[1]).

Berücksichtigung des toxischen Eigenvermögens.

Vorbehandlung	Intervall i. Tagen	Reinjektion Rinderserum inaktiv	Temperaturabnahme	Zeit	Shock (absolut)	Shock (auf Anaphylaxie reduziert)
0	0	1,0	5	60	150	—
0	0	1,5	6	120	360	—
0	0	2,0	8	120	480	—
0,01 Rinders.	10	2,0	31	240	3 820	3 340
0,01 „	10	2,0	13	120	780	300
0,01 „	27	2,0	30	90†	48 650	48 150
0,01 „	27	2,0	28	90†	48 740	48 260
0,01 „	40	2,0	4	60	120	0
0,01 „	40	2,0	61	75†	47 713	47 233

1) Die letal endigenden Fälle sind hier nach der weiter unten abgeleiteten S†-Formel berechnet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu lösen vermochte, in die Bauchhöhle von etwas unter mittelgroßen, nicht vorbehandelten Meerschweinchen, jedoch (300—350 g), wie aus den ersten 3 Horizontalreihen ersichtlich ist, in den Versuchsmengen von 1,0—2,0 ccm eine wenn auch nur ganz geringfügige Temperaturabnahme (0,5—0,8° C) auslöste. Es ist das eine Wirkung, die von jener in anaphylaktischen Tieren um ein vielfaches übertroffen wird. Um nun bei diesen Versuchen mit Genauigkeit sagen zu können, welcher Anteil der Shockgröße dem unspezifischen, toxischen Eigenvermögen des Antigens auf unvorbehandelte Tiere, welcher Anteil aber auf Rechnung der Ueberempfindlichkeit zu setzen ist, mußten die in den ersten 3 Horizontalreihen gewonnenen, das toxische Eigenvermögen wiedergebenden Shockgrößen von 150, 360, 480 Einheiten von jenen der anaphylaktischen Tiere, die mit denselben Versuchsmengen, wie angegeben, reinjiziert worden waren, abgezogen werden. Erst diese in der letzten Vertikalreihe berechneten Größen sind dann auf die Ueberempfindlichkeit zurückzuführen. So beträgt z. B. die absolute Se-Größe für Tier 4, welches am 21. Tage nach einer Vorbehandlung mit 0,01 Rinderserum mit 2,0 ccm desselben Materiales reinjiziert wurde, 3820 Einheiten, von denen aber nur 3340 auf Rechnung seiner Ueberempfindlichkeit gesetzt werden dürfen, ein Versuchsergebnis, welches, wie ich später zeigen werde, einem recht geringgradigen anaphylaktischen Shock entspricht.

Ein Beispiel anderer Art gibt Tier 8. Es reagierte am 40. Tage nach der Vorbehandlung in weit geringerem Ausmaße als ein unvorbehandeltes normales Tier auf die zweite Einverleibung. Sein absoluter Shock beträgt 120 Einheiten, von denen aber 0 auf Kosten einer Ueberempfindlichkeit zu setzen sind, d. h. das Tier befand sich am 40. Tage nach der Vorbehandlung nicht mehr im anaphylaktischen Zustande. Ein Tier, welches als ein Beispiel von eben beginnender anaphylaktischer Reaktion dienen kann, ist Meerschweinchen 5, welches mit einem absoluten Shockwert von 780 reagierte, von dem aber nur 300 Einheiten, also ein äußerst geringer Wert, als Ueberempfindlichkeit gedeutet werden dürfen.

Es wurde absichtlich in dieser Tabelle ein Versuch behandelt, der ein starkes toxisches Eigenvermögen des Antigenes

Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

und geringe anaphylaktische Reaktionsgrößen aufwies, um anknüpfend daran zeigen zu können, wie eine strenge und quantitative Scheidung vom anaphylaktischen Shock auf Basis der oben eingeführten Formel in der Praxis anaphylaktischer Studien nicht nur möglich, sondern zur Gewinnung sicherer und verläßlicher Resultate — namentlich im Hinblicke auf die Antigendiagnostik — auch notwendig ist.

Zum Schlusse dieses Abschnittes möge in Tabelle IV eine Auswahl von 29 Fällen anaphylaktischer Reaktionen und ihre ziffernmäßige Berechnung wiedergegeben werden, die durchwegs mit Erholung endigten. Sie wurden mit den verschiedenartigsten Antigenen in verschiedenen Versuchsmengen der Vor- und Nachbehandlung und zu verschiedenen Versuchszeiten gewonnen. Sie sind nach den Größen der beobachteten Shocks ansteigend geordnet. Für die Wertbestimmung dieser ist in Kolonne 7 dort, wo ein Antigen die Temperatur in unspezifischer Weise, wie oben näher ausgeführt, herabzusetzen vermochte, überall die reduzierte Größe eingesetzt. Die Abkürzungen der ersten, zweiten und dritten Kolonne bedeuten:

R.
S.
Pf. } Rinder-, Schweine-, Pferdeserum (inaktiviert!)

Erythroc. = Erythrocytenlösung.

Die Injektionen wurden, wenn diese nicht durch die Abkürzung intrav. (intravenös) anders angegeben wurden, intraperitoneal vorgenommen. Die Reinjektionen erfolgten durchaus mit inaktiviertem, vorher am unvorbehandelten Tiere genau ausgeprobtem Material. Ueber die Einzelheiten der Versuchstechnik geben H. Pfeiffers und meine früher erschienenen Mitteilungen genauen Aufschluß.

Aus dieser Tabelle geht weiterhin hervor, daß bei Temperaturabnahmen um 6° noch sehr häufig nach 7—8 Stunden völlige Erholung eintritt, ja daß Fälle beobachtet werden konnten, wo nach einer Temperaturabnahme um mehr als 9° der Shock überstanden wurde, ein Fall, der allerdings eine ganz singuläre Ausnahme genannt werden muß. Meistens tritt nach so kolossalen Temperaturstürzen, und zwar im Temperaturminimum, der Tod ein. Es verdient aber, was für die Aufstellung einer Formel für die tödlich endigenden Re-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Tag	Vorbehandlung	Intervall	Nachbehandlung (inakt. Serum)	Temperaturabnahmen (in Zehntelgraden)	Erholung (nachMinuten)	$Se = \frac{ta \cdot Z}{2}$
16. XII. 09	0,002 R.	14 Tage	0,5 R.	30	360	540
28. I. 09	0,5 S.	21 „	0,05 S. intrav.	38	180	3 420
28. I. 09	0,5 S.	21 „	0,05 S. „	40	180	3 600
15. VI. 09	0,01 erhitztes R.-Blut	21 „	0,75 R.	44	210	4 620
12. II. 09	0,001 R.	16 „	2,0 R.	34	300	5 100
16. XII. 09	0,002 R.	14 „	0,1 R. intrav.	38	270	5 130
7. VIII. 09	Wiederholt mit R. S.	22 „	2,0 R.	45	300	6 750
16. XII. 09	0,001 S.	14 „	0,5 S.	45	300	6 750
16. XII. 09	0,001 S.	14 „	0,5 S.	48	300	7 200
16. XII. 09	0,2 R.	14 „	0,5 R.	45	360	8 100
16. XII. 09	0,1 R.-Erythroc.	21 „	2,0 R.	46	360	8 280
15. VI. 09	0,01 gekochtes S.-Blut	21 „	1,5 S.	46	360	8 280
9. I. 09	0,01 R.	20 „	2,0 R.	53	330	8 745
23. XII. 09	5,0 S.	23 „	1,0 S.	48	390	9 360
16. VII. 09	0,01 Pf. S.	21 „	2,0 Pf.	41	480	9 840
23. XII. 09	5,0 S.	23 „	1,0 S.	48	420	10 080
15. VI. 09	1,0 R.	14 „	1,5 R.	42	480	10 080
7. VIII. 09	Wiederholt mit R. S.	22 „	2,0 R.	60	360	10 800
16. XII. 09	0,002 R.	14 „	0,5 R. intrav.	48	450	10 800
16. XII. 09	0,002 R.	14 „	0,5 R.	58	390	11 310
16. XII. 09	0,002 R.	14 „	0,5 R.	64	390	12 480
12. II. 09	0,001 R.	16 „	2,0 R.	62	420	13 020
16. XII. 09	0,00002 R.	23 „	0,5 R.	64	480	15 360
16. VII. 09	0,01 Pf. S.	25 „	2,0 Pf.	61	540	16 470
16. XII. 09	0,1 R.-Erythroc.	21 „	2,0 R.-Erythroc.	46	720	16 560
16. VII. 09	0,001 Pf. S.	25 „	2,0 Pf. S.	56	600	16 800
16. XII. 09	0,002 R.	14 „	0,5 R.	63	570	17 955
16. VII. 09	0,001 Pf. S.	21 „	2,0 Pf. S.	69	600	20 700
16. VII. 00	0,001 Pf. S.	25 „	2,0 Pf. S.	92	540	24 840

Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

aktionen von Belang ist, hier festgestellt zu werden, daß die Größe Se beiläufig 25000 Einheiten erreichen kann.

III. Bestimmung der S†-Größe.

Während bei der Bestimmung der Se-Größe die allgemeinen Gesetze aufgestellt werden konnten: 1) Kein in Erholung ausgehehender anaphylaktischer Shock ohne Temperaturabnahme; und 2) Die Größe der Temperaturabnahme und die Zeit bis zur völligen Erholung geht mit der Größe dieses Shocks parallel, so liegen die Verhältnisse in tödlich verlaufenden Fällen weitaus komplizierter.

Wenn man bei intraperitonealer Einbringung des Antigens in überempfindliche Tiere den Tod eintreten sieht, so kann er entweder blitzartig auf die Reinjektion, innerhalb der ersten 15 Minuten nach der Einverleibung erfolgen, Fälle, in denen kurz dauernde aber heftige nervöse Reizerscheinungen im Vordergrunde stehen, oder aber es erfolgt der Exitus erst nach einer oft Stunden währenden Erkrankung der Meerschweinchen, welche dann die schwersten Allgemeinerscheinungen bekannter Art darbieten. Zwischen beiden Extremen fand sich eine ganze Reihe von Uebergängen, wie aus der Tabelle V ersichtlich ist. Sie enthält eine Zusammenstellung von 28 tödlich verlaufenden Fällen von Meerschweinchenanaphylaxie vom Gesichtspunkte der Zeit aus geordnet, in welcher nach der Injektion der Tod eintritt.

Tabelle V.

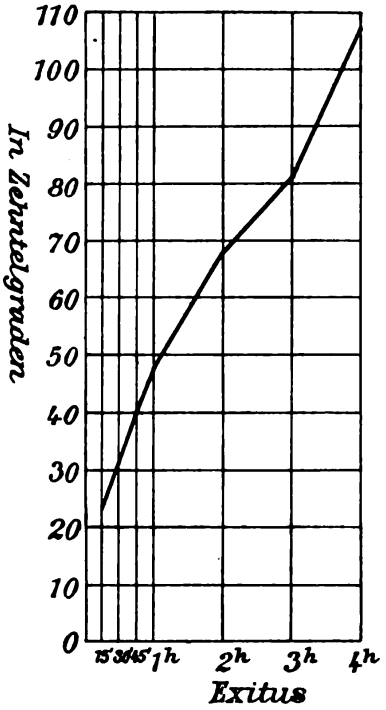
Zeit des Exitus und Temperaturabnahme.

Bei Exitus nach	Durchschnittliche Temperaturabnahme in Zehntelgraden	Zahl der Fälle
15 Minuten	23	3
45 „	40	3
60 „	48	11
120 „	68	5
180 „	81	2
Mehr als 180 Minuten	107	4

Mißt man die Körpertemperatur derartiger, dem anaphylaktischen Shock erliegender Tiere bis zum Eintritt des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Todes, so ergibt es sich oft, daß Tiere, welche plötzlich sterben, gar keine oder nur eine geringfügige Temperatursenkung aufweisen, solche Meerschweinchen aber, die erst nach mehreren Stunden eingehen, oft ganz exorbitante Abnahmen ihrer Eigenwärme erkennen lassen, ehe es zum Exitus kommt. So wurden Tiere beobachtet, die 12,4, ja 13,8° C unter der Norm längere Zeit hindurch vor ihrem Tode darboten. Die Erklärung dieses scheinbaren Widerspruches besteht, wie ich meine, darin, daß in so plötzlich verlaufenden Fällen der Organismus bis zum rasch eintretenden Tode einfach nicht Zeit hat, abzukühlen, während bei langsamerem, wenn auch tödlichem Verlauf, also bei weniger schwerem Shock, die Möglichkeit dazu gegeben ist, das Phänomen demnach auch in steter Regelmäßigkeit in die Erscheinung tritt.



Kurve 2. Beziehung zwischen Zeit des Exitus und der Größe des Temperatursturzes.

Bringt man, wie dies in Tabelle V geschehen ist, die Beobachtungen nach der Zeitdauer der Erkrankung in Gruppen, so ergibt sich, daß die Temperaturstürze ein um so größeres Ausmaß erreichen, je länger die Tiere nach der Injektion gelebt hatten. Drücken wir diese Beobachtung in Form einer Kurve aus, die als Ordinate die durchschnittliche Größe der Temperaturabnahmen in den einzelnen Versuchsgruppen, als Abszisse hingegen die Lebenszeit nach der Injektion hat, so ersehen wir aus dem steilen Anstieg der Verbindungslinie der einzelnen Fixpunkte (Kurve 2) das in zahlreichen Versuchsreihen bestätigte Gesetz ausgedrückt: Ein tödlich verlaufender anaphylaktischer Shock geht unter einer umso größeren Temperaturerniedrigung einher, je längere Zeit er ertragen wird.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In weiterer Konsequenz der eben besprochenen Tatsache kommen wir zu der experimentell oftmals erhärteten Folgerung, daß bei einem in diesem Sinne „idealen“ blitzartigen Tode ein Temperatursturz überhaupt nicht in die Erscheinung treten kann. Es ist das eine Versuchsbedingung, die manchmal bei intravenöser Reinjektion kompakter Antigendosen bei hochgradig anaphylaktischen Tieren gegeben ist, bei intraperitonealer Einverleibung aber wohl kaum jemals beobachtet werden kann.

Die Schwierigkeiten, bei tödlich verlaufenden Fällen anaphylaktischer Erkrankung des Meerschweinchens, waren doppelte. Wendet man die Formel $S = \frac{ta \cdot Z}{2}$ unverändert auch auf die tödlichen Fälle an, so bekommt man, da hier immer $Z = \infty$ gesetzt werden muß, immer $S\dagger = \infty$. Nun war es aber, was auch aus Tabelle V ersehen werden kann, unzweifelhaft, daß zwischen dem blitzartigen Tode einerseits und dem nach Stunden unter enormer Temperaturerniedrigung eintretenden Exitus insofern Unterschiede bestanden, als die schwersten Formen der Erkrankung die erste Gruppe darstellen, während die letzgenannten in Wirklichkeit Grenzfälle sind, die sich unmittelbar an die im II. Abschnitte besprochenen schweren Se-Fälle anschließen, also im Vergleich zum blitzartigen Tode als relativ leichte, wenn auch noch den Tod bewirkende S-Größen bewertet werden müssen. Es schien wichtig und erwies sich in der Folge auch als fruchtbar, zu versuchen, ob man nicht auch diesen unzweifelhaft existierenden Größenunterschieden einen ziffernmäßigen Ausdruck geben, ihre relativen Größen bestimmen könne, im vollen Bewußtsein, dabei in streng mathematischem Sinne einen Fehler zu begehen.

Wie aus der oben abgedruckten Tabelle IV ersichtlich ist und durch viele andere Versuche sich erwies, stellte ein nach der Se-Formel gefundener Shock von 30000 Einheiten eine Größe dar, die, soweit bisher die Erfahrungen reichen, als tödlich zu bezeichnen ist. Bei dieser Shockgröße trat bisher immer der Tod ein. Es repräsentiert also diese Zahl von Einheiten einen Schwellenwert zwischen den ausnahmsweise noch mit Erholung und den in der Regel letal endigenden Fällen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weiterhin ist es, wie oben angedeutet wurde, unzweifelhaft, daß Beobachtungen, in denen der Tod nach mehreren Stunden im Temperaturminimum erfolgt, sich dem Schwellenwerte essentiell anschließen, während von hier bis zu der schwersten Form, zu dem blitzartigen Tode mit seinem kurzen zeitlichen Verlauf und seinen relativ geringen Temperaturstürzen, in continuo Beobachtungen hinüber leiten, wo infolge der immer kürzer werdenden Lebensdauer, obwohl der Shock sicherlich immer größer wird, die Temperaturabnahmen dennoch immer kleiner werden. Wir müssen demnach für tödlich endigende Fälle die folgenden Sätze aussprechen: Ein anaphylaktischer Shock mit tödlichem Ausgang ist um so schwerer und um so größer zu bewerten, je rascher nach der Injektion der Tod eintritt, folglich — nach den Ergebnissen der Tabelle V — je geringer die Abnahme der Körpertemperatur ist. Er muß den Schwellenwert von 30000 Einheiten übersteigen.

Während sich also zur Größe des Shocks in den überlebenden Fällen ta·Z direkt proportioniert verhält, steht dieses Produkt hier zu ihm in verkehrter Proportion und wir können unter Benützung desselben Produktes ta·Z zur Aufstellung einer in der Praxis brauchbaren S†-Formel kommen: Berechnen wir uns für eine Reihe von tödlich verlaufenden anaphylaktischen Shocks die Se-Formel ohne Rücksicht darauf, daß Erholung nicht eintritt, aus dem Grade der dabei in die Erscheinung tretenden Temperaturabnahmen und der Größe des zeitlichen Verlaufes bis zum Tode, so ergibt es sich, daß die empirisch aus einer Reihe praktischer Erfahrungen gefundene größte Zahl solcher Einheiten 20000 beträgt und Fälle darstellt, die sich an den tödlichen Schwellenwert von 30000 de facto enge anschließen. Da nun aus praktischen Gründen gefordert werden muß, daß die S†-Formel einmal immer größer sein muß als dieser Schwellenwert, andererseits aber auch ein ziffernmäßiges Bild für die tatsächlich während des Lebens beobachtete Shockgröße geben muß, die Zahl der Einheiten aber um so größer sein muß, je rascher der Tod eingetreten ist, je kleiner also die tatsächlich während des Lebens erhobene Shockgröße ist, so läßt sich diese Beziehung einerseits durch die Differenz aus 20000, dem größten, bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tödlichen Grenzfällen und bei langem Krankheitsverlaufe beobachteten Shock und dem tatsächlich im Einzelfalle erhobenen Produkt $\frac{ta \cdot Z\dagger}{2}$ darstellen. Da aber die letalen Fälle den Grenzwert von 30000 Einheiten übertreffen müssen, so muß dieser Schwellenwert zu der oben durch den Versuch selbst bestimmbaren Differenz noch addiert werden. Wir kommen also zu der empirisch aufgefundenen Formel:

$$S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{ta \cdot Z\dagger}{2}).$$

Um die Formel sofort an einigen praktischen Beispielen auszuproben:

1) Eben noch tödlicher Verlauf (Tabelle VI, Tier 1): Ein Tier stirbt bei der Reinjektion unter einer Temperaturabnahme von 11° C nach 4 ½ Stunden; so ist die tatsächlich beobachtete Shockgröße $= \frac{110 \cdot 270}{2}$ und $S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{110 \cdot 270}{2}) = 35\,150$, eine Ziffer, welche sich enge an den aus der Tabelle ableitbaren tödlichen Schwellenwert von 30000 anschließt. Der Verlauf ist ein langgestreckter, nähert sich also den mit Erholung endigenden Erkrankungen ungemein.

2) Tödlicher Verlauf (Tabelle VI, Tier 7): Ein Tier erliegt der Reinjektion unter einer Temperaturabnahme von 7,6° C nach 120 Minuten, demnach ist die wirklich beobachtete Shockgröße $= \frac{76 \cdot 120}{2}$ und $S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{76 \cdot 120}{2}) = 45\,440$.

3) Akuter tödlicher Verlauf (Tabelle VI, Tier 20): Das Meerschweinchen geht 45 Minuten nach der Antigeneinspritzung unter einer Temperaturabnahme von 5,2° C ein, was einer Shockgröße von $\frac{52 \cdot 45}{2}$ entsprechen würde. Die Formel für S† wäre in diesem Falle $S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{52 \cdot 45}{2}) = 48\,830$.

4) Akutester Verlauf (Tabelle VI, letzter Fall 28): 15 Minuten nach der Injektion stirbt das Tier unter einem Temperaturabfall von 1,5° C, die Größe von S† beträgt: $S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{14 \cdot 15}{2}) = 49\,895$, eine Größe, die schon dem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Schwellenwert = 30 000.

Tag	Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion	Temperatur-abnahme	Exitus nach Minuten	$S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{ta \cdot Z}{2})$
6. IV. 09	0,1 R. Erythrocyten	21 Tage	2,0 R. Se.	110	270	35 150
9. II. 09	1,5 M. Se.	14 „	2,0 M. Se.	138	210	35 510
3. VIII. 09	0,001 Hundeblut	21 „	1,5 Hundes. in.	114	240	36 320
X. 09	0,01 Pf.	14 „	1,0 Pf.	65	300	40 250
21./17. VII. 09	0,02 Pf.	21 „	2,0 Pf.	90	180	41 900
21./17. VII. 09	0,02 Pf.	21 „	2,0 Pf.	72	150	44 600
21./17. VII. 09	0,02 Pf.	25 „	2,0 Pf.	76	120	45 440
X. 09	0,01 Pf.	21 „	2,5 Pf.	75	120	45 500
XI. 09	0,01 R. Se.	20 „	2,0 R.	63	120	46 220
X. 09	0,01 Pf.	21 „	1.5 Pf.	82	90	46 310
	0,0001 Menschenblut	21 „	2,0 M. Se.	44	120	47 360
X. 09	0,1 Hühnereiklar	14 „	2,0 Eiklar	71	60	47 870
X. 09	0,01 Pf.	21 „	2,0 Pf.	68	60	47 960
XI. 09	0,01 R. Se.	40 „	2,0 R.	61	60	48 170
XI. 09	0,01 R. Se.	20 „	2,0 R.	50	60	48 500
XI. 09	0,01 R. Se.	15 „	2,0 R.	50	60	48 500
3. VII. 09	0,001 Katzenblut	21 „	1,5 Katzens. in.	48	60	48 560
X. 09	0,1 Hühnereiklar	21 „	2,0 Eiklar	47	60	48 590
XI. 09	0,01 R. Se.	15 „	2,0 R.	47	60	48 590
XI. 09	0,01 R. Se.	15 „	2,0 R.	52	45	48 830
XI. 09	0,01 R. Se.	17 „	2,0 R.	30	60	29 100
X. 09	0,01 Pf.	21 „	1,0 Pf.	39	45	49 123
X. 09	0,1 Hühnereiklar	21 „	2,0 Eiklar	29	60	49 130
XI. 09	0,01 R. Se.	17 „	2,0 R.	28	60	49 160
XI. 09	0,01 R. Se.	40 „	2,0 R.	29	45	49 347
28. I. 09	0,5 S.	21 „	0,3 S. intravenös	32	10	49 840
28. I. 09	0,5 S.	21 „	0,2 S. intravenös	22	10	49 890
12. VIII. 09	0,02 Pf.	30 „	2,0 Pf.	14	15	49 895

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

5) blitzartigen Tode nahe kommt. Für ihn gelte, da dann ta = 0 Z = 0 ist, der Wert S† = 30000 + 20000 − 0 = 50000 Einheiten.

Man sieht, daß unter Anwendung dieser Formel nicht nur eine gegenseitige Abschätzung der tödlich verlaufenden Fälle von den leichtesten, ganz langsam zum Tode führenden angefangen bis zu den schwersten akut eintretenden möglich ist, sondern daß auch, wenn man Tabelle IV und V durchliest, die Shockgrößen ganz kontinuierlich und ohne experimentelle Lücke zu den blitzartigen Todesfällen führen, für welche als empirischer Wert 30000 + 20000 zu setzen wäre. Daß diese beiden Zahlen keineswegs bloß willkürlich gewählt sind, sondern sich mit Notwendigkeit als Schwellenwerte aus den bisher gemachten Erfahrungen ergeben, ist gleichfalls einleuchtend.

Man wird auf diesem Wege nur in 2 Fällen auf scheinbare Schwierigkeiten stoßen, mit der Se- und S†-Formel das Auskommen zu finden, dann nämlich, wenn ein in Erholung ausgehender Fall beobachtet werden sollte, bei welchem die Shockgröße 30000 übersteigt, oder aber, wenn ein tödlich verlaufender Shock in einem Versuche gesehen werden sollte, bei dem das Produkt von $\frac{ta \cdot Z\dagger}{2}$ größer als 20000 ist. Nach unseren bisher gemachten Erfahrungen steht dies nicht zu erwarten. Sollte es dennoch je sich ergeben, so wird man aber durch die Hinzufügung der beiden Zeichen Se (für Shock der mit Erholung endigt) und S† (für Shock der einen tödlichen Verlauf nimmt) zu der nach den Formeln gewonnenen Zahl von Einheiten niemals in Verlegenheit kommen. Würde z. B. ein Se-Shock von 34000 Einheiten beobachtet werden, so wäre durch das Se vor der Ziffer zugleich auch die Formel bezeichnet, nach welcher gerechnet wurde und der Fall als jene sicherlich seltene Ausnahme charakterisiert, bei der trotz Uebersteigen des allgemein gültigen Schwellenwertes von 30000 Einheiten noch der Tod eintritt. Würde andererseits ein tödlicher Ausgang beobachtet werden, bei dem $\frac{ta \cdot Z\dagger}{2} > 20000$, nehmen wir an 24000 ist, so wäre S† = 30000 + (20000 − 24000) = 26000, ein Wert, der gewöhnlich nur bei Fällen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Erholung aus dem anaphylaktischen Shock gefunden wird. Die Formel, nach der er berechnet wurde und die Tatsache des tödlichen Ausganges jedoch wäre durch das S†-Zeichen gegeben, und dadurch gleichfalls auch in der Einheitenzahl ziffernmäßig ausgedrückt, daß es sich um einen nur ausnahmsweisen tödlichen Fall handelt.

Zum Schlusse dieses II. und III. Abschnittes der vorliegenden Arbeit möchte ich als Ergebnis der bisher mitgeteilten Ueberlegungen und Tatsachen feststellen:

1) Fälle von aktivem anaphylaktischen Shock, welche in Erholung ausgehen, lassen sich bestimmen durch die Anwendung der Formel $Se = \frac{ta \cdot Z}{2}$, wobei ta die Größe der Temperaturabnahme im Shock ausdrückt (in Zehntelgraden C), Z die zur Wiedererlangung der Ausgangstemperatur notwendige Zeit in Minuten bedeutet.

2) Fälle von 30000 Einheiten endigten nach den bisher gesammelten Erfahrungen ausnahmslos eben mit dem Tode; es besitzt demnach die genannte Zahl einen empirisch aufgefundenen Grenzwert.

3) Einen praktisch brauchbaren und ziffernmäßigen Ausdruck für Fälle aktiver Anaphylaxie mit letalem Ausgang erhalten wir durch die Anwendung der auf empirischem Wege gefundenen Formel: $S\dagger = 30000 + (20000 - \frac{ta \cdot Z\dagger}{2})$, wobei die beiden ersten Zahlen ebenso viele Shockeinheiten, ta und Z† die oben angegebenen Größen bedeuten, nur mit dem Unterschiede, daß Z† die Zeit wieder in Minuten ausdrückt, die vom Momente der Injektion bis zum Exitus im Einzelfalle verfließt.

4) Diese beiden Formeln gestatten direkt nur eine Berechnung und Abschätzung der absoluten Shockgrößen gegeneinander, führen aber erst indirekt, wie im V. Abschnite gezeigt werden soll, zur Größenbestimmung einer bestehenden Anaphylaxie, ein Wert, der nicht nur aus der Shockgröße allein, oder nur unter Berücksichtigung der Größe der den Shock auslösenden Antigenmenge, des Gewichtes des Tieres und anderer Faktoren gefunden werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IV. Einige praktische Proben für die Brauchbarkeit der vorgeschlagenen Maßmethode.

A. Das Auftreten der Anaphylaxie.

Einer der Beweise dafür, daß man es bei dem anaphylaktischen Temperatursturz mit einem integrierenden Bestandteile im Symptomenbilde der Ueberempfindlichkeitserscheinungen zu tun habe, wie H. Pfeiffer und ich in unseren „Studien über Eiweißanaphylaxie" des Näheren ausgeführt haben, ist die Tatsache, daß während des Inkubationsstadiums dieser Immunitätserscheinung spezifische Temperaturabfälle durch die Reinjektion nicht zu erzielen sind, sondern daß sie erst mit der Auslösbarkeit der anderen Symptome erhalten werden können. Es soll nunmehr versucht werden, an dem bisher vorliegenden Beobachtungsmaterial diese Verhältnisse näher zu verfolgen.

Zu diesem Zwecke wurden zwei Reihen von je 20 und 12 Tieren, die einen mit Rinder-, die anderen mit Pferdeserum in den konstanten Mengen von je 0,01 ccm vorbehandelt und

Tabelle VII.
Entwicklung der Anaphylaxie.
(5.—40. Tag.) Rinderserum.

Vorbehandlung Rinderserum	Intervall Tage	Reinjektion Rinderserum	Temperaturabnahme	Zeit	Shock	Mittel
0,01	5	2 ccm	0	0	0	0
0,01	10	2 „	31	530	5 115	2 564
0,01	10	2 „	27	530	4 450	
0,01	10	2 „	0	0	0	
0,01	10	2 „	13	105	683	
0,01	15	2 „	50	60+	48 500	37 425
0,01	15	2 „	52	45+	48 830	
0,01	15	2 „	47	60+	48 590	
0,01	15	2 „	36	210	3 780	
0,01	20	2 „	17	150	1 275	26 234
0,01	20	2 „	50	90+	47 750	
0,01	20	2 „	63	90+	47 165	
0,01	20	2 „	53	330	8 745	
0,01	40	2 „	5	90	225	24 131
0,01	40	2 „	10	75	375	
0,01	40	2 „	61	75+	47 213	
0,01	40	2 „	6	75	450	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIII.

Zeit. Pferdeserum.

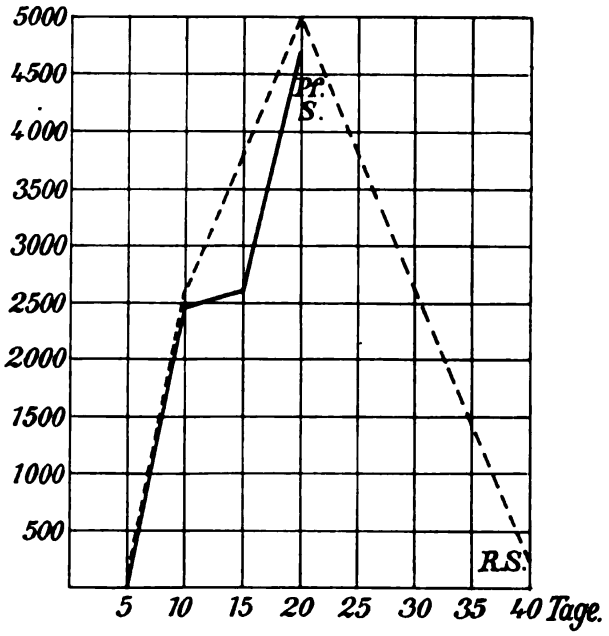
Vorbehandlung in. Pferdeser.	Intervall Tage	Reinjektion Pferdeserum	Temperaturabnahme in Zehntelgraden	Erholung nach Minuten	$S = \frac{ta \cdot Z}{2}$
0,01	10	1 ccm	14	135	945
0,01	10	1 „	25	395	4 938
0,01	10	1 „	11	165	908
0,01	15	1 „	10	105	525
0,01	15	1 „	30	150	2 250
0,01	15	1 „	12	150	900
0,01	15	1 „	12	105	630
0,01	15	1 „	67	255	8 543
0,01	22	1 „	25	150	1 875
0,01	22	1 „	36	165	2 970
0,01	22	1 „	37	165	3 053
0,01	22	1 „	89	240	20 680

nach verschiedenen Zeitintervallen, am 5., 10., 15., 20., 22. und 40. Tage mit wieder konstanten Mengen des zugehörigen Antigens (1,0 bezw. 2,0 ccm) in inaktivem Zustande intraperitoneal nachbehandelt. Wie aus Tabelle VII und VIII hervorgeht und wie noch andere hier nicht in allen Einzelheiten wiederzugebende Versuche mit Pferdeserum für den 5. Tag nach der Reinjektion lehren, zeigt es sich, daß zu diesem Zeitpunkte im allgemeinen eine deutliche anaphylaktische Reaktion noch nicht zu erhalten ist, während die nach der Se- und S†-Formel berechneten durchschnittlichen Shockgrößen für den 10. bis 40. Tag zunächst ein starkes Ansteigen, nach dem 22. Tage aber ein Absinken der Werte erkennen lassen.

Benützt man zur Wertbestimmung, wie dies in Kurve 3 geschehen ist, lediglich jene Fälle, die unter den angeführten Versuchsbedingungen mit Erholung endigten, trägt man als Einheiten auf die Ordinate diese berechneten Shockgrößen, als Einheiten auf die Abszisse die seit der Vorbehandlung verflossene Zeit, so resultiert ein Kurvenverlauf, welcher diese Verhältnisse deutlich macht und anzeigt, wie beiläufig um den 20. Tag herum die Reaktionsfähigkeit der Tiere, sowohl nach Vorbehandlung mit Pferde- wie mit Rinderserum am größten ist, dann aber rapide abfällt und außerdem in beiden Versuchsreihen annähernd dieselben Werte ergibt. Es war mir

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in diesen Versuchen lediglich darum zu tun, zunächst zu einem ziffernmäßigen Ausdruck dieser den älteren Erfahrungen anderer entsprechender Tatsachen zu kommen. Sie im Detail näher zu verfolgen hinderte der Mangel an Tiermaterial.



Kurve 3. Durchschnittliche Shockgrößen bei Reinjektion zwischen 5. und 40. Tag nach Vorbehandlung mit 0,01 Rinderserum und Pferdeserum.

Ich verfüge jedoch über eine Reihe von einzelnen Erfahrungen, welche mir zu beweisen scheinen, daß der Kurvenverlauf mit seinem Maximum um den 20. Tag herum, sein steiler Anstieg und Abfall nur für mittlere Dosen der Vorbehandlung Gültigkeit hat, also bei einmaliger Einverleibung von ca. 0,1 bis 0,001 ccm. Wählt man sehr kompakte Dosen 0,1—10,0 ccm Antigen, oder sehr kleine Mengen, 0,0001—0,000001—0,0000001 ccm, so ist sicherlich der Zeitpunkt des Eintrittes der Anaphylaxie wesentlich verzögert, was ja auf anderen Versuchswegen von Doerr und Russ schon festgestellt wurde, auf dem betretenen Wege aber einem ganz exakten Studium zugänglich wäre. Es muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, diese Verhältnisse zu verfolgen, wie ich ja auch mit den beiden mitgeteilten, leider nur an einem kleinen Tiermaterial erhobenen Versuchsbeispielen vorläufig nur zu einer Kurve von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

approximativer Gültigkeit gelangen konnte und auch sie durch ausgedehnte Wiederholungen manche Korrektur wird erfahren müssen.

Es erscheint also geboten, die hier unter aller Reserve festgelegten Verhältnisse 1) bei einmaliger Reinjektion fallender Antigenmengen, 2) bei zweimaliger und mehrfacher Vorbehandlung mit wechselnden Dosen noch des weiteren zu studieren.

B. Die Antianaphylaxie.

Auch das Phänomen der Antianaphylaxie gestattet auf dem hier betretenen Wege eine um so exaktere ziffernmäßige Analyse, als wir es hier ausnahmslos mit Se-Fällen zu tun haben, mit solchen also, die eine absolute Wiedergabe der Shockgröße gestatten, ohne daß ein Rekurs auf die in der S†-Formel verwendeten empirischen Werte nötig wäre. In der Tabelle IX sind 2 Beispiele für die oft zu machende Beobachtung gegeben, wo nach einem ausgiebigen anaphylaktischen Shock schon 24 Stunden später komplette Antianaphylaxie

Tabelle IX.

Antianaphylaxie und Wiederkehr.

Tier	Vorbehandlung Rinderser.	Intervall	Reinjektion Rinderser.	Temperaturabnahme in Zehntelgraden	Erholung nach Minuten	$S = \frac{ta \cdot Z}{2}$
1	0,01	21 Tage	1 ccm	28	180	2 520
		24 Std.	1 „	0	0	0
		72 Std.	1 „	0	0	0
		29 Tage	2 „	0	0	0
2	0,01	21 Tage	1 „	28	240	3 360
		24 Std.	1 „	0	0	0
		72 Std.	1 „	0	0	0
		88 Tage	1 „	42	720	15 120

eingetreten ist, so daß bei einer Reinjektion nunmehr eine Temperaturabnahme überhaupt nicht mehr verzeichnet werden kann. Tier 1 dieser Zusammenstellung zeigt aber ferner, daß manchmal selbst nach einem Monate die Ueberempfindkeit noch nicht wiedergekehrt ist, während Tier 3 nach dem Durchleben einer antianaphylaktischen Zeitperiode (keine Reaktion bei 2. und 3. Reinjektion am 1. und 3. Tage nach einem ausgiebigen anaphylaktischen Shock von 3360 Ein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

heiten!) neuerlich in das Stadium einer hochgradigen, gegenüber früherer fünfmal größeren Hypersensibilität von 15120, unter analogen Versuchsbedingungen gewonnenen Einheiten eingetreten ist.

Die Fälle der Zusammenstellung in Tabelle X hingegen geben wieder, wie manchmal nicht sofort nach der ersten Reinjektion eine komplette Absättigung des anaphylaktischen Reaktionskörpers zu erreichen ist, sondern erst bei der dritten in kurzem Intervall wiederholten Reinjektion vollständig wird.

Tabelle X.

Entwicklung der Antianaphylaxie.

Tier	Tag	Vorbehandlung Pferdeser.	Intervall	Reinjektion Pferdeser.	Temperaturabnahme in Zehntelgraden	Erholung nach Minuten	$S = \frac{ta \cdot Z}{2}$
1	XI. 09	0,01	25 Tage	1,5	61	360	10 980
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	1,5	6	60	180
2	XI. 09	0,01	25 Tage	1,5	56	450	12 600
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	1,5	12	180	1 080
3	XI. 09	0,01	25 Tage	1,5	30	420	6 300
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	1,5	13	120	780
4	XI. 09	0,01	25 Tage	1,5	69	540	18 630
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	1,5	10	180	900
	XI. 09	0,01 + 3,0	24 Std.	1,5	0	0	0
5	XI. 09	0,01	25 Tage	1,5	41	450	9 225
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	1,5	4	60	120
	XI. 09	0,01 + 3,0	24 Std.	1,5	2	30	30
6	XI. 09	0,01	25 Tage	2,0	92	480	22 080
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	2,0	24	180	2 160
	XI. 09	0,01 + 3,0	24 Std.	2,0	0	0	0
7	XI. 09	0,01	25 Tage	2,0	72	660	23 760
	XI. 09	0,01 + 1,5	24 Std.	2,0	10	180	900

Während z. B. Tier 4 am 25. Tage nach einer Vorbehandlung von 0,01 Pferdeserum auf 1,5 inaktivem Pferdeserums mit einer Shockgröße von 18 630 Einheiten reagiert, so war diese Reaktion bei einer neuerlichen Einverleibung derselben Antigenmenge 24 Stunden später 20mal kleiner, betrug also nur mehr 900, um erst am 2. Tage nach der ersten Reinjektion gegenüber derselben Gabe Antigen 0 zu betragen. Ganz analog verhielt sich Tier 6 mit seiner Shockgröße von 22080, 2160 und 0 bei der ersten, zweiten und dritten Reinjektion

Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

in kurzen Intervallen. Bei den übrigen Tieren, die nur ein zweites Mal 24 Stunden später reinjiziert, aber nicht so lange weiterbehandelt wurden, bis der Ausschlag gleich 0 war, erwies es sich, daß der Shock bei der zweiten Einspritzung des Antigens der Vorbehandlung zwar nur ein Zehntel bis ein Neunzehntel des bei der ersten Reinjektion beobachteten betrug, also nur von einer zwar sehr beträchtlichen, relativen, aber von keiner absoluten Unempfindlichkeit die Rede sein konnte. Diese hätte sich aber, wie alle einschlägigen Erfahrungen gelehrt haben, bis zur dritten Reinjektion am 2. oder 3. Tage mit Sicherheit entwickelt.

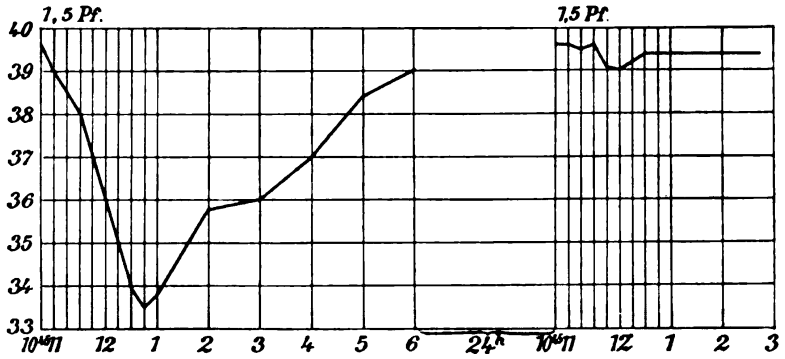
Bei diesem Anlasse ist es vielleicht nicht unwichtig, auf die vielfältig gemachte Erfahrung hinzuweisen, wie außer der Menge des Antigens bei der Reinjektion auch — und vielleicht mehr noch! — die Zeit für das Komplettwerden der Antianaphylaxie von wesentlicher Bedeutung ist, so zwar, daß bei sonst gleichen Versuchsbedingungen, namentlich bei relativ geringfügigen Dosen der Reinjektion an dem einem Shock folgenden Tage manchmal die Unempfindlichkeit noch nicht völlig entwickelt, sondern nur relativ, wenn auch immerhin recht beträchtlich ist, während am 2. oder 3. Tage auch ohne weitere Antigengabe sie vollständig geworden ist. Derartige inkomplette Absättigungen, wie in Tabelle X, beobachtet man namentlich dann, wenn Tiere auf relativ kleine Antigendosen mit besonders intensiven Temperaturstürzen das erste Mal reagierten, während weniger hochempfindliche Tiere, also bei Shockgrößen von 3000—5000 etwa, fast regelmäßig schon innerhalb 24 Stunden vollständig unempfindlich geworden sind.

Meiner Meinung nach läßt sich dieser Befund zwanglos so erklären, daß der bei hochempfindlichen Tieren in enormer Menge angehäufte anaphylaktische Reaktionskörper im Tierorganismus mehr Antigen zur vollständigen Absättigung braucht und diese daher, wenn Antigen nur in ungenügenden Mengen vorhanden ist, erst nach der zweiten oder dritten Reinjektion, oder aber nach längerer Zeit am 2., 3. Tage vollständig wird. Im Gegensatze dazu sind schwächer überempfindliche Tiere entsprechend dem geringeren Gehalt an Reaktionskörper schon durch die einmalige Einspritzung von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mittleren Antigengaben komplett zu antianaphylaktisieren, daher auch schon einer zweiten Probeinjektion gegenüber vollständig unempfindlich.

Ich möchte die Frage der Antianaphylaxie nicht verlassen, ohne auf einen eigentümlichen Temperaturkurvenverlauf hingewiesen zu haben, der hie und da bei inkomplett antianaphylaktischen Tieren beobachtet werden kann. Fast ausnahmslos setzt, wofür auch Kurve 4 als Beispiel dienen kann, bei der ersten Reinjektion 14 Tage nach Einverleibung von 0,01 Pferdeserum der Temperaturabfall sofort, stark und gleichmäßig ein, so daß bis zum Zeitpunkte des Temperaturminimums die Temperaturkurve eine sehr steil abfallende Gerade bildet, um von da angefangen wenn auch langsamer,



Kurve 4. I. Injektion vor 25 Tagen mit 0,01 Pferdeserum.

so doch wieder kontinuierlich die Norm zu erreichen. Anders häufig bei einer zweiten Probeinjektion, die 24 Stunden später mit denselben Antigenmengen vorgenommen wird. Wenn auch in solchen Fällen schwach, so reagiert das Tier doch noch. Zunächst sinkt aber die Temperatur, was man unter solchen Versuchsbedingungen nicht so selten erlebt, gar nicht, später nur langsam, nur um wenige Zehntelgrade. In anderen Versuchen fiel sie zunächst gar nicht ab, ja sie stieg sogar an und die Hauptreaktion trat erst nach $1^1/_2$—2 Stunden nach der Antigenzufuhr in die Erscheinung, wodurch Kurven von einer Form zustande kommen, wie dies die zweite der nebenstehenden Beobachtungen zeigt. Ich begnüge mich heute damit, diese Tatsache festzustellen und behalte mir es vor, sie weiter zu verfolgen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

C. Die Organspezifität der Anaphylaxiereaktion.

Das Studium dieser Frage mit Hilfe des anaphylaktischen Temperatursturzes wurde, wie in H. Pfeiffers und meinen gemeinsamen „Studien über Eiweißanaphylaxie" an diesem Orte kurz angedeutet wurde, bisher an 3 Substraten geprüft, an den Erythrocyten des Rindes, der Augenlinse des Rindes und des Meerschweinchens, endlich an dem Eiklar und dem Dotter des Hühnereies.

Tabelle XI bringt die mit reinen Erythrocytenlösungen vom Rinde, bezw. mit Rinderserum beobachteten Spezifitätserscheinungen, berechnet nach der Se- und S†-Formel. Dabei

Tabelle XI.

Erythrocytenanaphylaxie.

Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion	Temperaturabnahme in Zehntelgrad.	Erholung nach Minuten	$S = \frac{ta \cdot Z}{2}$
0,1 R.-Erythr.-Lös.	14 Tg.	2,0 R.-Erythr. 10 Proz.	28	180	2 520
0,1 „	14 „	2,0 „ 10 „	12	120	720
0,1 „	14 „	2,0 R. Se.	46	480	11 040
Unvorbehandelt	14 „	2,0 R.-Erythr. 10 Proz.	0	0	0
0,1 R. Se.	14 „	2,0 R. Se.	110	270 †	35 150
0,1 R. Se.	14 „	2,0 R. Se.	46	420	9 660
0,1 R. Se.	14 „	2,0 R.-Erythrocyten	2	30	30

zeigte es sich, wie eine einfache Berechnung der Durchschnittswerte lehrt, daß im anaphylaktischen Tier bei der Einwirkung von an sich unschädlichen Dosen:

Erythrocytenlösung auf Erythrocyten-Reaktionskörper	1 620 E.;
von Erythrocytenlösung auf Serum-Reaktionskörper	30 E.;
von Serum auf Serum-Reaktionskörper	22 410 E.;
von Serum auf Erythrocyten-Reaktionskörper	11 040 E.

erhalten wurden.

Während also die mit Blutkörperchenlösung einmal vorbehandelten Tiere gegen die Wiedereinbringung desselben Materiales 54mal mehr empfindlich waren als die mit Serum vorbehandelten Tiere gegen dieses artgleiche, aber organspezifische Antigen, erwies es sich, daß die Hämoglobintiere, wie ich sie kurz nennen möchte, gegen die Einbringung von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum nur halb so stark anaphylaktisch waren (11 040) als die Serumtiere (22 410 im Mittel).

Worauf schon H. Pfeiffer und ich jüngst auf Grund des Kurvenlaufes hingewiesen haben, das läßt sich nunmehr exakt ziffernmäßig wiederholen: Es besteht die Tatsache zu Recht, daß bei einem unzweifelhaften Vorhandensein einer Organspezifität des Erythrocyteneiweiß diese Spezifität keine ganz absolute, sondern nur eine relative ist unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse erkannt werden kann. Bedenkt man weiterhin die gleichfalls aus den Shockgrößen ableitbare Tatsache, daß Erythrocytentiere gegen die Reinjektion des ausschließlich artspezifischen Serums relativ beträchtlich empfindlicher sind (1 : 2) als die Serumtiere gegen die Reinjektion der artgleichen Erythrocyten (1 : 54), so kommt man notgedrungen auf diesem Umwege zu einem Beweis und zu einem ziffernmäßigen Ausdruck für die ja a priori naheliegende Annahme, daß zwar in den Erythrocyten neben reichen Mengen ausschließlich organspezifischen Eiweiß (Hämoglobin) auch in Spuren lediglich artspezifisches Antigen enthalten ist, daß hingegen der Gehalt des Serums an einem nach dem Organ differenzierten Eiweißkörper (Hämoglobin) bei entsprechender Präparierung gleich 0 zu setzen ist.

Man geht wohl nicht fehl, wenn man die verschwindende Menge, welche der äußerst empfindliche anaphylaktische Temperatursturz für das Serum nachweist, auf Hämoglobinspuren zurückführt, welche bei der Gewinnung des Serums aus den so fragilen Erythrocyten unvermeidbarer Weise in dieses übertreten. Es ist deshalb, was ja ohne weiteres verständlich ist, für das gänzlich intakte und normale Plasma auch ein vollständiges Fehlen des nach dem Organ spezifizierten Hämoglobins auf diesem Wege zu erweisen [1]).

Andererseits hat aber auch die hier experimentell begründete Annahme für ein biologisches Denken nichts Ge-

1) Anmerkung bei der Korrektur: Es ist ohne weiteres verständlich, daß mit Hilfe des Temperatursturzes und der ziffernmäßigen Berechnung der Shockgrößen bei entsprechender Größe der zur Reinjektion verwendeten Antigenmengen das „Uebergreifen" der Reaktion vollständig vermieden werden kann, was auch für die weiter unten wiederzugebenden Versuche über Organspezifität Geltung hat.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwungenes oder Unwahrscheinliches, daß in den Erythrocyten, und zwar vermutlich in ihrem Stroma neben dem funktionell differenzierten Hämoglobin Antigen, also Eiweißsubstanzen vorhanden sind, denen ausschließlich die Arteigentümlichkeit zukommt.

Ganz ähnliche Verhältnisse ergeben sich bei der näheren Verfolgung der Anaphylaxie gegen Augenlinsen. In Tabelle XII

Tabelle XII.
Meerschweinchenlinsenanaphylaxie.

Vorbehandlung	Intervall	Injektionen	Temperaturabnahme	Zeit	Shock
0	—	0,06 Meerschw.-Linse	0	0	0
0,06 Meerschw.-Linse	14 Tg.	0,06 „	17	180	1530
0,12 „	14 „	0,06 „	30	240	3600
0	—	0,06 „	0	0	0
0,06 Meerschw.-Linse	14 Tg.	0,06 „	28	165	2310
0,06 „	14 „	0,06 „	33	240	3960

sind 2 Fälle von Meerschweinchenanaphylaxie des Meerschweinchens unter Benützung der Se-Formel wiedergegeben, welche zunächst die von Kraus, Doerr und Sohma sowie von Andrejew und Uhlenhuth aufgedeckte Tatsache neuerlich erhärten, daß diese Tiere tatsächlich gegen ihre eigene Augenlinse überempfindlich werden, weiterhin, daß die Größe dieser Ueberempfindlichkeit nach mehrmaliger Injektion $1^1/_2$—2mal größer wird, als nach einmaliger Vorbehandlung[1]).

Tabelle XIII enthält eine Auswahl von Versuchen, die in der Richtung unternommen wurden, auf dem eingeschlagenen Wege zu bestimmen, wie denn die Organspezifität des Linsen-

1) Auch körpereigenes Linseneiweiß, wenn es sofort nach der Gewinnung aus der frischen Linse injiziert wird, vermag in größerer Menge die Temperatur herabzusetzen. Längeres Trocknen oder Erhitzen auf 57° C jedoch vermag diese störende Eigenschaft derart abzuschwächen, daß sie innerhalb der zur Auslösung eines Shocks notwendigen Versuchsmenge sich nicht bemerkbar macht. Bei größerer Menge der in Tabelle XIII verwendeten Augenlinse vom Rinde kann diese Fehlerquelle nicht völlig ausgeschaltet, jedoch unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse sehr wohl von der anaphylaktischen Reaktion unterschieden werden. Es mußte daher in diesen Versuchen wieder der „reduzierte Shock" berechnet werden.

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle XIII.

Rinderlinsenanaphylaxie.

Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion	Temperaturabnahme	Zeit	Shock (absolut)	Shock (reduziert)
0	—	0,08 Rinderlinse getrocknet	8	120	480	—
0	—	0,06 Meerschweinchenlinse getrocknet	0	0	0	—
0	—	2,0 Rinderserum in.	6	60	180	—
1/2 Rinderlinse	21	0,06 Meerschweinchenlinse	32	180	2 880	2 880
1/2 „	21	0,08 Rinderlinse	81	420	17 010	16 530
1/2 „	21	2,0 Rinderserum in.	14	105	735	555

eiweiß vom Rinde sich verhalte, einmal dem artgleichen Serumeiweiß, andererseits dem Eiweiß der Augenlinse derselben und anderer Spezies gegenüber. Wie aus den „reduzierten Shockgrößen" ersichtlich ist, reagierten die mit Rinderlinse vorbehandelten Tiere auf die Reinjektion von Rinderlinse 30mal stärker, auf die Einbringung von Meerschweinchenlinse 5mal stärker als auf das artgleiche Rinderserum. Man sieht, daß auch hier die Organspezifität des Linseneiweiß hochentwickelt ist, ohne aber ganz absolut zu sein und weiterhin läßt sich die von Uhlenhuth zuerst erwiesene Durchbrechung des Gesetzes der Artspezifität in exakter Weise unschwer erkennen und bestätigen.

Was die geringe Reaktion der Tiere mit Rinderserum anlangt, die, wie erwähnt, 30mal geringer ist als mit entsprechenden Mengen Rinderlinse, aber immerhin bei dieser äußerst empfindlichen Methode vorhanden ist, so kann sie, meiner Meinung nach, nicht anders und den anatomischen Befunden entsprechender erklärt werden als durch die Annahme, daß indifferente Gewebselemente in Form von Kapselbestandteilen, Leukocyten, Plasma oder Kammerwasser sie bedingen.

Tabelle XIV endlich bringt die Versuche, das Eiklar des Hühnereiweiß gegenüber dem Dotter zu differenzieren, Versuche, die sich an die einschlägigen, vor Jahren veröffentlichten Experimente Uhlenhuths nach der Präzipitinmethde anlehnen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIV.
Hühnereiklar und Dotter.

Vorbehandlung	Intervall	Reinjektion	Temperaturabnahme	Zeit	Shock	Mittel
0,1 Hühnereiweiß	14	2 ccm Eiweiß (1:1)	12	105	630	—
0,1 „	14	2 „ „	11	120	660	—
0,1 „	14	4 „ „	8	120	480	—
0,1 „	14	4 „ „	71	75 †	47 338 †	—
0,1 „	21	4 „ „	29	75 †	48 913 †	—
0,1 „	21	4 „ „	47	60 †	48 590 †	—
0,1 Dotter	21	2 ccm Dotter (1:1)	57	540	15 390	17 175
0,1 „	21	2 „ „	79	480	18 960	
0,1 „	21	2 ccm Eiweiß (1:1)	21	420	4 420	6 620
0,1 „	21	2 „ „	42	420	8 820	
0,1 Eiweiß	21	2 ccm Eiweiß (1:1)	85	90 †	46 125 †	38 862
0,1 „	21	2 „ „	72	600	11 600	
0,1 „	21	2 ccm Dotter (1:1)	42	420	8 820	7 790
0,1 „	21	2 „ „	27	420	6 670	

Die ersten 6 Tiere, welche ausschließlich mit Eiklarlösungen vorbehandelt worden waren, sollten zunächst darüber orientieren, ob mit diesem Material das Ueberempfindlichkeitsphänomen leicht und regelmäßig auslösbar, sowie mit Hilfe der Temperaturmessung verfolgbar sei. Wie aus den Shockgrößen ersichtlich ist, gelingt dies ganz leicht und einwandsfrei. Weiterhin wurden nun je 4 Tiere mit dem Dotter, 4 Tiere mit dem Eiklar von Hühnereiern in denselben Mengen vorbehandelt und in jeder Gruppe mit beiden Materialien reinjiziert. Die mit Dotter vorbehandelten und mit Dotterlösungen geprüften Tiere ergaben dabei Mittelwerte von 17 175 E.; wurden sie aber mit Eiweiß bei der Reinjektion behandelt, so konnte nur ein Mittelwert von 6620 E. beobachtet werden. Die Eiklartiere reagierten auf die Reinjektion von Eiklar mit einem Mittelwert von 38 862 E., auf die Einverleibung entsprechender Dottermengen nur mit 7290 E. Auch hier ist also die Spezifität unverkennbar, wenn auch nicht absolut zu nennen!

V. Ueber die Beziehung der Shockgröße zur Anaphylaxiegröße.

Es wurde bisher der anaphylaktische Shock lediglich als eine gegebene Größe berücksichtigt und gezeigt, wie durch seine ziffernmäßige Analyse eine exakte Beantwortung einiger Fragen möglich sei, die H. Pfeiffer und mich während des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Studiums der Ueberempfindlichkeitserscheinung bisher beschäftigten.

Wenn es auch ohne weiteres verständlich ist, daß man über die Wertbestimmung der Shockgröße auch zu einer Maßmethode für die aktive Anaphylaxie überhaupt muß gelangen können, so durfte dieses Ziel doch erst dann angestrebt werden, nachdem sich die praktische Brauchbarkeit der mathematischen Darstellung überhaupt erwiesen hatte. Hauptsächlich als Beleg dafür mögen die im Kapitel IV besprochenen Einzelfälle dienen.

Soll unter Mitbenützung der nur für die Shockberechnung gültigen Se- und S†-Formel ein Ausdruck für eine Anaphylaxiegröße gefunden werden, so müssen außer der Reaktionsgröße, die sich durch den Quotienten $\frac{ta \cdot Z}{2}$ ausdrücken läßt, noch eine Reihe von anderen Faktoren mit in Betracht gezogen werden und zwar vor allem die Antigenmenge, welche bei der Reinjektion verwendet worden war (An), und dann das Gewicht des Tieres (G). Die Antigenmenge der Vorbehandlung (Av) sowie das Intervall (J) zwischen erster und zweiter Injektion kann bei der Aufstellung einer Formel zunächst außer acht gelassen werden. Die Antigenmenge der Vorbehandlung deshalb, weil ja bei der Größenbestimmung einer Anaphylaxie im Einzelfalle die jeweilige Ueberempfindlichkeit eine als solche gegebene Größe ist, die nur hinsichtlich ihrer Entstehung von diesem Faktor abhängt. Er ist demnach nur dann in Rechnung zu setzen, wenn Studien über die Beeinflussung des Ablaufes der Anaphylaxie durch verschieden große Av-Mengen unter verschieden gewählten Bedingungen unternommen werden. Dasselbe gilt für das zwischen der Einverleibung des Antigens und der Reinjektion verstrichene Zeitintervall. Es ist nur dann in der Formel zu berücksichtigen, wenn über die Beziehung dieses Versuchsmomentes zur Entwicklung und zum Ablauf der Ueberempfindlichkeit Versuche angestellt werden. Für die rechnerische Darstellung der Anaphylaxiegröße sind sie aber dann gänzlich belanglos, wenn man, wie dies in unseren zu Vergleichen herangezogenen Versuchsreihen der Fall ist, die beiden Größen als Konstante (Av = 0,01 Antigen intraperitoneal, J = 14 bezw. 21 Tage) einführt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was die Rolle des Gewichtes der Versuchstiere für den Ausgang der Versuche anlangt, so ist sie, wie schon aus der Versuchstechnik hervorgeht, allerdings eine einschneidende. Die Größe G (= Gewicht des Versuchtstieres) ist der Größe des anaphylaktischen Shocks verkehrt proportioniert. Mit anderen Worten: Bei sonst gleichbleibenden Verhältnissen, insbesondere bei gleich großen Antigenmengen der Nachbehandlung (An) ist der anaphylaktische Shock um so größer, je kleiner G ist. Hingegen ist sie direkt proportioniert der Größe einer bestehenden Anaphylaxie überhaupt, da bei gleich großen Shocks (S) und gleichbleibender Antigenmenge der Nachbehandlung (An) ein Tier um so stärker überempfindlich ist, mit je größerem Körpergewicht es gleich stark reagiert. Da aber bei der Methodik der angeführten Versuche die Voraussetzung gemacht wurde, daß nur Tiere im Gewicht von 350—400 g verwendet werden dürfen, wir also in dieser Hinsicht immer unter annähernd gleichen Verhältnissen arbeiten und so kleine Gewichtsdifferenzen praktisch nicht in Betracht kommen, so kann auch die Größe G als konstante angesehen und unter dieser Voraussetzung vernachlässigt werden.

Was die Wechselbeziehung zwischen der Größe einer Anaphylaxie und eines beobachteten Shocks anlangt, so ist ohne weiteres einzusehen, daß diese beiden Faktoren einander bei sonst gleichbleibenden Verhältnissen direkt proportional sind, mit anderen Worten, daß bei gleichen Antigenmengen der Nachbehandlung und bei konstanten Größen von Av, J und G eine Ueberempfindlichkeit um so größer ist, je größer der Faktor Se oder S†, also der beobachtete Ueberempfindlichkeitsshock war.

Anders liegt das Verhältnis zwischen der Antigenmenge der Reinjektion und der Größe einer Ueberempfindlichkeit. Wenn auch der Shock nach allen gemachten Erfahrungen zunimmt, je größer die Menge des reinjizierten Antigens war, so ist doch unzweifelhaft eine Anaphylaxie bei sonst gleichbleibenden Voraussetzungen um so größer zu bewerten, eine je kleinere Antigenmenge einen Shock ein und derselben Größe hervorrufen kann. Diese ist also der Größe des Shocks direkt, der Größe einer Ueberempfindlichkeit hingegen verkehrt proportional, d. h. bei gleich großem Shock ist jene Anaphylaxie

Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

die größere, die durch die kleinere Antigenmenge zu denselben Se- bezw. S†-Werten geführt hat.

Da wir, wie oben dargetan wurde, die Faktoren Av, J, G als Konstante außer acht lassen dürfen, so resultiert aus diesen Ueberlegungen zur Größenbestimmung einer bestehenden Anaphylaxie die von H. Pfeiffer auf dem Salzburger Naturforschertage aufgestellte Formel:

$$A = \frac{\text{Shockgröße (Se oder S†)}}{\text{Menge des Antigens der Nachbehandlung}} = \frac{S}{An} = \frac{ta \cdot Z}{2\ An}, \text{ bezw.}$$

$$\frac{30000 + (20000 - \frac{ta \cdot Z\dagger}{2})}{An}.$$

Da die Bestimmung der Shockgröße Gegenstand ausführlicher Erörterungen gewesen ist, erübrigt es nur noch, die Rolle, welche der Faktor An in dieser Formel spielt, näher experimentell zu beleuchten.

Zu einer vorläufigen Orientierung wurden die nachfolgenden Versuche angestellt, die aber leider aus Mangel an Tiermaterial nur in so geringer Anzahl ausgeführt werden konnten, daß ich mich enthalten muß, bindende Schlußfolgerungen daran zu knüpfen. Einen wirklichen Einblick in die hier obwaltenden Beziehungen kann man erst dann erhoffen, wenn auf Grund zahlreicher Einzelversuche konstante und damit allgemein gültige Werte erhalten worden sind.

Das ist auch der Grund, warum in der vorliegenden Arbeit bei der Darstellung der einzelnen Resultate in den vorstehenden Kapiteln bei der Größenbestimmung der davon unabhängigen Shockgrößen innegehalten werden und ich es mir versagen mußte, auch die jeweilige Anaphylaxiegröße zu bestimmen. Das kommt aber hier deshalb bei der Abschätzung der Shockgrößen gegeneinander nicht in Betracht, weil in den einzelnen Versuchsreihen unter absolut gleichen Voraussetzungen gearbeitet wurde, also nicht nur das Av und J, sondern auch, was von Bedeutung ist, bei Versuchsreihen, die miteinander verglichen werden konnten, das An im Hinblicke auf die in Rede stehende Schwierigkeit konstant gewählt worden ist.

Ein Einblick in die Beziehung der An-Größe zu der obenstehenden Formel konnte erhofft werden bei der Einverleibung steigender Antigendosen in anaphylaktische Tiere, die gleich schwer waren, mit den gleichen Mengen derselben Serumart

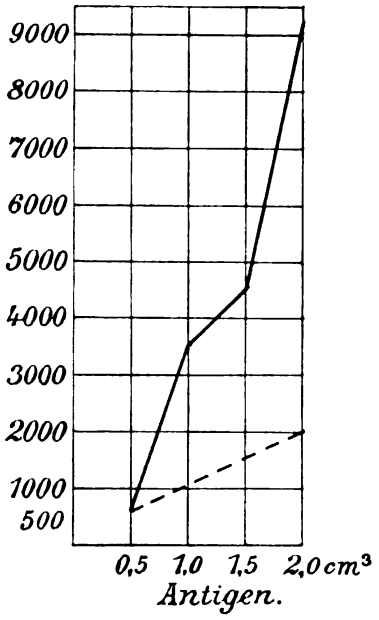
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorbehandelt worden waren und nach Ablauf der Inkubationsperiode in dem gleichen Zeitmoment reinjiziert wurden.

Tabelle XV.
Konstante Vorbehandlung. Steigende Reinjektion.

Vorbehandlung Rinderser.	Intervall Tage	Reinjektion Rinderser.	Temperaturabnahme	Zeit	Shock	Mittelwerte aus den Fällen mit Erholung
0,01	21	0,5	4	150	300	600
0,01	21	0,5	10	180	900	
0,01	21	1,0	39	60 †	43 825	4050
0,01	21	1,0	30	270	4 050	
0,01	21	1,5	35	270	4 725	4725
0,01	21	1,5	82	240 †	40 160	
0,01	21	2,0	72	300	10 800	9195
0,01	21	2,0	46	330	7 590	
0,01	21	2,5	58	75 †	47 845	—
0,01	21	2,5	75	105 †	36 063	—

Tabelle XV verdeutlicht die Versuchsanordnung und ihr Ergebnis nach Shockgrößen. Bei den in Tabelle XV aufgestellten und in Kurve 5 verarbeiteten Mittelwerten fanden ausschließlich die Se-Größen Berücksichtigung, weil sie allein frei von den empirisch gefundenen Faktoren der S†-Formel absolute Werte garantierten, was für die Klarstellung derartiger prinzipiell bedeutungsvoller Beziehungen unerläßlich schien, so belanglos dieser Umstand auch für die praktische Antigendiagnose genannt werden mußte.



Kurve 5. Verhältnis der Temperatursturzzunahme bei steigenden Dosen der Reinjektion. 21. Tag nach 0,01 Pferdeserum-Vorbehandlung.

Aus Tabelle XV geht zunächst die Tatsache hervor, daß unter sonst gleichen Versuchsbedingungen bei steigenden Mengen des Antigens der Nachbehandlung nicht in demselben Verhältnis die Shockgrößen zunehmen, sondern daß diese Zu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nahme beträchtlich die Steigerung des Antigens übertrifft. Bei der Zufuhr von 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 (: 2,5) Antigen wuchsen die dabei beobachteten Shockgrößen nach dem Verhältnis von 600 : 4050 : 4725 : 9195 an oder aber, wenn 0,5 als Basis genommen wird, es verhält sich $1 \times 0{,}5 : 2 \times 0{,}5 : 3 \times 0{,}5 : 4 \times 0{,}5 = 1 \times 600 : 7 \times 600 : 8 \times 600 : 15 \times 600$.

Würden wir uns für diesen speziellen Fall — ich bin, wie gesagt, weit davon entfernt, ihm eine allgemeine Giltigkeit zuzuerkennen! — aus den gefundenen Se-Größen unter Benützung der oben gewonnenen Formel die Anaphylaxiegröße berechnen, so wäre diese, allgemein ausgedrückt, da 0,5 als Versuchsbasis angenommen wurde: $A = \frac{Se}{2\ An} = \frac{Se}{2\ (05 \cdot f)}$, wobei f jene oben für den besonderen Fall empirisch gefundene Verhältniszahl darstellt, mit der multipliziert die Größe des S auf die Grundmenge von 0,5 zurückgeführt würde. Das ist für die einzelnen Tiere berechnet:

$$\text{Tier 1: } A_1 = \frac{ta \cdot Z}{2\ (05 \cdot f)} = \frac{4 \cdot 150}{2\ (05 \cdot 1)} = \frac{300}{0{,}5} = 600$$

$$\text{Tier 2: } A_2 = \frac{10 \cdot 180}{2\ (05 \cdot 1)} = \frac{900}{0{,}5} = 1800$$

$$\text{Tier 4: } A_3 = \frac{30 \cdot 270}{2\ (05 \cdot 7)} = \frac{4050}{(0{,}5 \cdot 7)} = \frac{4050}{3{,}5} = 1157$$

$$\text{Tier 5: } A_4 = \frac{35 \cdot 270}{2\ (05 \cdot 8)} = \frac{4725}{4} = 1181$$

$$\text{Tier 7: } A_7 = \frac{72 \cdot 300}{2\ (05 \cdot 15)} = \frac{10\,800}{(05 \cdot 15)} = 1440$$

$$\text{Tier 8: } A_8 = \frac{46 \cdot 330}{2\ (05 \cdot 15)} = \frac{7590}{7{,}5} = 1012$$

Dieses eine praktische Beispiel möge genügen, um zu zeigen, wie erst durch die Einführung des leider nur für diesen Einzelfall bestimmten Faktors f aus den nach den Antigenmengen wachsenden Shockgrößen ein Einblick in die wahre Größe der Ueberempfindlichkeit gewonnen wird, die, wenn man von Tier 1 absieht, bei den übrigen Se-Fällen so ziemlich konstant ist und einem Mittelwert von annähernd 1200 Einheiten entspricht.

So weit die heute vorliegenden Erfahrungen, die noch nach mancher Richtung einer näheren experimentellen Verfolgung wert erscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich möchte diese Arbeit nicht beschließen, ohne in Uebereinstimmung mit E. Friedberger und Braun und im Gegensatze zu O. Thomsen und P. Uhlenhuth wieder mit allem Nachdruck auf die Tatsache hingewiesen zu haben, daß wir in der in No. 1 der Wiener klinischen Wochenschrift, 1909 (2. Januar), mitgeteilten und damals schon die praktische Antigendiagnose pro foro berücksichtigenden Temperaturreaktion nicht nur das empfindlichste, sondern auch das einzig objektive und messbare Symptom einer Ueberempfindlichkeit besitzen. Es ist mir deshalb ganz unverständlich, warum die genannten Autoren noch dazu ohne genügende eigene Erfahrungen seine Verwertbarkeit pro foro kurzer Hand zurückweisen. E. Friedberger und Braun, die bisher allein in gründlicher Weise dieses Phänomen studierten, kamen freilich zu einer ganz anderen, besser begründeten Ansicht. Ich muß auf Grund einer nahezu einjährigen, gründlichen und selbständigen Erfahrung über den Temperatursturz neuerlich hervorheben, daß er heute allein anaphylaktischen Versuchen jenen Grad von Exaktheit und Empfindlichkeit gewährleistet, der gerade pro foro unbedingt gefordert werden muß. Das ergibt sich übrigens auch zur Genüge aus den Ergebnissen der vorliegenden Versuche.

Die in dieser Arbeit mitgeteilten Resultate, möchte ich in den nachfolgenden Schlußsätzen zusammenfassen:

1) Fälle von aktivem anaphylaktischen Shock, welche in Erholung ausgehen, lassen sich bei Meerschweinchen quantitativ bestimmen nach der Formel $Se = \frac{ta \cdot Z}{2}$, wobei ta die Größe der Temperaturabnahme im Shock, ausgedrückt in Zehntelgraden Celsius, Z die zur Wiedererlangung der Ausgangstemperatur notwendige Zeit in Minuten bedeutet.

2) Einen praktisch brauchbaren und ziffernmäßigen Ausdruck für Fälle aktiver Ueberempfindlichkeit bei Meerschweinchen mit letalem Ausgange erhält man durch die Anwendung der auf empirischem Wege gefundenen Formel $S\dagger = 30\,000 + (20\,000 - \frac{ta \cdot Z\dagger}{2})$, in der die ersten beiden Zahlen ebenso viele Shockeinheiten, ta und Z† die oben angegebenen Werte be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deuten, nur mit dem Unterschied, daß hier die Zeit, und zwar wieder in Minuten ausgedrückt, dem Intervall vom Momente der Injektion bis zum Exitus im Einzelfalle entspricht.

3) An Beispielen der Antianaphylaxie und der spezifischen Erythrocyten-, Augenlinsen-, Eiklar- und Dotteranaphylaxie wird im Detail die Verwendbarkeit dieser Formeln dargetan, und das Auftreten sowie der weitere Verlauf der Anaphylaxie vom Momente nach der Antigenzufuhr vom 5. bis zum 40. Tage verfolgt.

4) Um aus der Größe eines beobachteten anaphylaktischen Shockes die Größe einer bestehenden Anaphylaxie zu bestimmen, muß, da Gewicht der Versuchstiere, Zeitintervall und Antigenmenge der Vorbehandlung als Konstante wegfallen, nach der Formel $A = \frac{S}{2\,An}$ gerechnet werden, wobei unter An die zur Auslösung des Shocks verwendete Antigenmenge der 2. Injektion zu verstehen ist.

5) Aus Mangel an Tiermaterial konnte die Rolle dieses Faktors An nur in einer Versuchsreihe approximativ bestimmt werden. Es ergab sich dabei, daß bei wachsenden Antigenmengen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen die Shockgrößen beträchtlich mehr ansteigen, als der gewählten Vermehrung des Antigens entsprechen würde. Eine weitere experimentelle Verfolgung dieser Verhältnisse möchte ich mir vorbehalten.

Literaturverzeichnis.

Pfeiffer, H., Wiener klin. Wochenschr. 1909, No. 1 und No. 36.

—, Sitzungsberichte der k. k. Akad. der Wissenschaften in Wien, mathem.-naturwissenschaftliche Klasse, Abt. III, Bd. 118, März 1909.

—, Vierteljahrsschrift für gerichtl. Medizin, 1909, Supplem.-Bd. über die Tagung der Gesellschaft für gerichtliche Medizin in Salzburg.

Pfeiffer, H., und Mita, S., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, Heft 4, 1909, p. 410.

Doerr und Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, Heft 1, und Bd. 3, Heft 2.

Kraus, Doerr und Sohma, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 30.

Andrejew, Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 30, No. 2, 1909.

Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens etc. Jena, G. Fischer, 1909.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3698

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. V. No. 4.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Wendelstadt Bonn.]

Einwirkung von Kaltblüterpassagen auf Nagana- und Lewisi-Trypanosomen.

II. Mitteilung.

Von Prof. **Wendelstadt** und **T. Fellmer.**

Mit 2 Tafeln.

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. Januar 1910.)

Unsere erste Mitteilung über das gleiche Thema findet sich in dieser Zeitschrift Bd. 3, Heft 4, p. 422. Wir beschrieben damals die beobachteten Formveränderungen nur flüchtig, weil die Zeichnungen noch nicht fertiggestellt waren. In der ersten Publikation ist ein sinnentstellender Druckfehler untergelaufen, auf den wir hier hinweisen möchten. P. 424 muß das letzte Wort der 17. Zeile „Ratten" und nicht „Nattern" heißen.

Unser Ausgangsmaterial (Fig. 1) bei den Versuchen mit Nagana waren Trypanosomen, deren Größe, Virulenz und Aufnahmefähigkeit für die Giemsasche Färbung von uns während einer Reihe von Jahren bei einer sehr großen Zahl von Tierpassagen beobachtet worden waren, so daß uns auch die normalerweise auftretenden geringen Formveränderungen in den Ratten vertraut waren. Der benützte Lewisi-Stamm war ebenfalls schon mehrere Jahre von uns weitergezüchtet und beobachtet worden. Wir überzeugten uns bei jedem einzelnen Versuchstiere einer neuen Tierart, das wir zur Passage benützten, vor der Impfung, daß weder durch die mikroskopische Untersuchung noch durch die Ueberimpfung auf Ratten bei ihm Flagellaten nachweisbar waren. Die Art der Impfung ist in der ersten Publikation angegeben. Zur Färbung wurde die Giemsasche Färbung, die uns am vertrautesten war, angewandt.

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

I. Versuche mit Nagana-Trypanosomen.

A. Nattern.

Die Ueberimpfung von Nagana-Trypanosomen auf Nattern gelingt in der Mehrzahl der Fälle nicht. Nur sehr selten sind die Trypanosomen nach der Infektion mikroskopisch nachzuweisen. In einigen Versuchen war das Blut der Nattern infektiös, ohne daß wir Trypanosomen in ihm entdecken konnten. Diese Beobachtung bestätigen Laveran und Pettit[1]). Als Ausgangsmaterial benützten wir Nagana-Trypanosomen von normaler Größe (Fig. 1). In den ersten Tagen nach der Impfung finden sich, wenn sie überhaupt nachweisbar sind, vereinzelte Trypanosomen von annähernd normaler Größe im Natternblut. Trypanosomen, wie Fig. 2, fanden sich 4 Tage nach der Impfung im Natternblut, wie Fig. 3 5 Tage nach der Infektion. Sie haben noch fast dieselbe Größe wie das Ausgangsmaterial. Sie färben sich schwächer, und das Protoplasma erscheint vielfach körnig. Je länger aber Trypanosomen sich im Natternblut vermehren, desto kleiner werden sie. Fig. 4, 5 und 6 sind Trypanosomen, wie wir sie nach 8 Tagen im Natternblut fanden. Deutlich läßt sich ein allmähliches Kleinerwerden verfolgen. Es handelt sich hier nicht etwa um Reste untergehender Trypanosomen, sondern um Neubildungen im Natternblut; denn in diesen kleinen Formen sind deutlich Kernteilungen (Fig. 4). Cystenbildung (Fig. 5 und 6) wurde auch gesehen. Vielleicht bilden sich dann die von uns früher beschriebenen, im Blute nicht nachweisbaren Dauercysten. Hierdurch ließe sich auch die noch nach dem gänzlichen Verschwinden der Trypanosomen im Natternblut einige Tage anhaltende Infektiosität des Natturnblutes erklären eine ebenfalls von Laveran und Pettit bestätigte Beobachtung. Einmal fanden wir das Blut bei einer Natter (Natter 16) noch 12 Tage nach der Infektion ansteckend, ohne daß wir mikroskopisch trotz genauester Untersuchung Flagellaten finden konnten.

---

1) A. Laveran und A. Pettit, La virulence des Trypanosomes des Mammifères peut-elle être modifiée après passage par des Vertébrés à sang froid? Comptes rendus des Séances de l'Académie des Sciences, T. 149, p. 329.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn von der Natter auf Ratten zurückgeimpft wird, so entwickeln sich in den ersten Rattenpassagen aus den wenigen in der Natter überlebenden kleinen Formen und Keimen außerordentlich kräftige Trypanosomen, die viel größer als das Ausgangsmaterial sind (Fig. 7 und 8). Sie zeichnen sich auch dadurch aus, daß sie viel intensiver und schneller die Farbe annehmen; Geißel und Kerne treten nach ganz kurzer Einwirkung der Farbe sehr scharf hervor. Im Protoplasma sind viele versprengte Chromatinkörperchen zu sehen. Dieser auffallende Größenunterschied hält sich durch mehrere Passagen; in späteren Ueberimpfungen (wir haben ihn mehrfach durch 20 und mehr Passagen verfolgt) nimmt er allmählich wieder ab, während die Virulenzsteigerung, die wir in der ersten Mitteilung eingehend besprachen, bleibt.

Die Formenveränderung der Trypanosomen im Nattern-blut konnten wir besonders schön bei der Natter 8 (I. Mitteilung) beobachten. Von ihr stammen auch die gezeichneten Bilder 2—6.

B. Schildkröten.

Nagana-Trypanosomen sind auf Schildkröten (Europäische Sumpfschildkröte), wenn auch nicht mit Sicherheit, zu übertragen. Wenn die Infektion gelingt, so zeigt sich auch hier bei den Trypanosomen ein allmähliches Kleinerwerden und Cystenbildung (Fig. 11) bei den kleinen Formen, die sich im Schildkrötenblute entwickelt hatten. Diese kleinen Formen sind leicht und scharf färbbar. Fig. 9—13 stammen von Schildkröte B (s. I. Mitteilung). Fig. 9 und 10 zeigen Nagana-Trypanosomen, welche 2 Tage in der Schildkröte waren. Es ist eine Zerfallsform (Fig. 10) und ein im Teilungsstadium befindliches Trypanosoma wiedergegeben, die schon etwas kleiner als das Ausgangsmaterial (Fig. 1) erscheinen. Fig. 11—13 zeigen eine erhebliche Verkleinerung; sie haben sich 5 Tage nach der Infektion im Blute der Schildkröte entwickelt. Das Blut dieser Schildkröte war noch 8 Tage nach der Impfung infektiös, obgleich keine Trypanosomen mehr mikroskopisch nachweisbar waren. Ebenso wie bei der Zurückimpfung von Nattern auf Ratten sahen wir auch hier bei der Rückimpfung in den ersten Rattenpassagen auffallend große Trypanosomen

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

sich entwickeln, die sich nicht von Fig. 7 und 8 unterschieden. Allmählich kehrten auch diese Formen wieder zur Norm zurück. Wir verfolgten die Nagana-Trypanosomen nach der Schildkrötenpassage einmal durch 21 und einmal durch 20 Rattenpassagen.

C. Eidechsen.

Bei unseren Versuchen, Nagana-Trypanosomen auf Eidechsen (graue und Smaragdeidechsen) zu übertragen, hatten wir viele Mißerfolge. Einmal nur bei zahlreichen Versuchen konnten wir die Flagellaten im Eidechsenblute finden (Eidechse 9, I. Mitteilung). Auch hier waren die Trypanosomen kleiner (Fig. 14—17). Sie sind schwer färbbar; die Kerne nehmen besonders schlecht die Farbe an. An der Stelle des Kernes sieht man nur vereinzelte Chromatinbrocken liegen, die Geißeln sind zum Teil gar nicht erkennbar. Beginnende Teilung ist sichtbar. Cystenbildung haben wir nicht beobachtet; sie wäre vielleicht noch eingetreten, wenn wir die Eidechse länger untersucht hätten. Wir mußten sie aber zur Blutgewinnung für die Uebertragung auf Ratten schon einen Tag nach dem Auftreten der Trypanosomen im Blute töten. In den Ratten entwickelten sich auch hier auffallend große starke Trypanosomen, die wir, da sie sich in nichts von Fig. 7 und 8 unterscheiden, nicht zeichneten.

D. Erdmolche.

Im Erdmolch haben wir die Trypanosomen nach der Infektion nicht gesehen und nur durch Ueberimpfung (2 Tage nach der Infektion) ihr Vorhandensein bewiesen. Bei der Zurückimpfung auf Ratten konnten wir in bezug auf Größe der Trypanosomen keine Unterschiede konstatieren.

E. Insekten.

Da wir diese Versuche in unserer ersten Mitteilung nicht gebracht haben, so gehen wir hier auch auf die Einwirkung dieser Passagen auf die Virulenz ein.

Wir haben einige Versuche mit Insekten gemacht. Zu den Impfungen wurde ein durch Kaltblüterpassagen sehr

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

virulent gewordener Naganastamm benützt, der in 3 Tagen Ratten tötete. Von den infizierten Insekten wurde auf Ratten mit positivem Erfolge zurückgeimpft. Wir erzielten keine Virulenzsteigerung; aber eine Formveränderung trat bei der Rückimpfung im Rattenblute ein. In den Insekten selbst konnten wir keine Trypanosomen nachweisen.

Ein Waldlaufkäfer (Cychrus rostratus) wurde mit KP.-Nagana-Trypanosomen geimpft. 7 Tage später wurde der Körper des Käfers mit physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und einer Ratte eingespritzt. Die erste Ratte starb erst nach 13 Tagen. Von ihr wurde weiter geimpft. Die Virulenz stieg auf 5 Tage. Die nächsten 5 Ratten, die aufeinanderfolgend infiziert wurden, starben nach 3, 3, 3, 4, 4 Tagen, was der Virulenz des Ausgangsmateriales entsprach. Wir führten den Versuch nach 7 Rattenpassagen nicht mehr weiter fort. Bemerkenswert ist, daß die Körpersubstanz des Käfers noch 7 Tage nach der Infektion die Ratte ansteckte. Möglicherweise erhält sich die Infektionsfähigkeit noch länger. Daß die erste Ratte erst nach 13 Tagen starb, entspricht den Beobachtungen, die wir immer bei Kaltblüterpassagen gemacht haben. Es muß erst wieder eine Gewöhnung der Trypanosomen an das Rattenblut eintreten, nachdem sie sich auf Kaltblüter- oder Insektenblut eingestellt haben; oder es werden Dauerformen übertragen, die längere Zeit zu ihrer Entwicklung zu Trypanosomen brauchen.

Die Trypanosomen in der ersten Ratte, die direkt von dem Käfer infiziert wurde, waren bedeutend größer als die normalen (Fig. 18). Sie färbten sich sehr intensiv und rasch. Der Randfaden und die Geißel waren dicker als normal. In den nächsten Rattenpassagen verloren sich diese Formveränderungen.

Ein Dungpillenkäfer (Aphodius) wurde mit demselben Nagana-Stamm infiziert und sein zerriebener Körper 2 Tage nachher einer Ratte injiziert. Diese starb nach 13 Tagen; zwei weitere, die nacheinander infiziert wurden, nach je 3 Tagen. Wir machten nur 3 Rattenpassagen. Auch hier waren die Trypanosomen in der ersten Ratte vergrößert (Fig. 19). Während die Kerne und die Geißelwurzel sich gut und leicht färbten, nahm Randfaden und Geißel erst nach sehr

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

langer Einwirkung der Farbe eine ganz schwache Färbung an. Geißelwurzel und Geißel verhielten sich der Farblösung gegenüber sehr different. Nur in der ersten Ratte zeigten sich diese Erscheinungen.

Es wurden außer diesen zwei Versuchen mit Käfern einige Experimente mit Raupen und Puppen von Admiral-Schmetterlingen gemacht, ohne Erfolg. Die Raupen und Puppen wimmelten von Bakterien; die Ratten gingen nach Ueberimpfung an Peritonitis zugrunde.

F. Mollusken.

Von einer gelben Waldschnecke (Arion impiricorum), die mit demselben Nagana-Stamm geimpft worden war, wurde nach 2 Tagen ein Stück im Mörser zerrieben und einer Ratte injiziert. Die Ratte erkrankte an Trypanosomiasis und starb nach 7 Tagen. Weitere Rattenpassagen wurden nicht gemacht. In der Ratte waren die Trypanosomen vergrößert (Fig. 20). Das Protoplasma und die Kerne waren leicht färbbar; dagegen nahm Randfaden und Geißel auch bei 24-stündiger Einwirkung und mehrfacher Erneuerung der Farblösung kaum Farbe an. Der Randfaden war nur erkennbar, wenn die undulierende Membran auf das Blaugefärbte zu liegen kam. Die Geißelwurzel zeigt auch hier, ebenso wie nach der Passage durch Aphodius-Käfer, ein ganz anderes Verhalten gegenüber der Färbung als der Randfaden und die Geißel. Die Substanz der Geißelwurzel und der Geißel sind in ihrem Verhalten gegenüber der Farbe nicht identisch.

II. Versuche mit Lewisi-Trypanosomen.

Zu diesen Versuchen benutzten wir einen Lewisi-Stamm, den wir der Güte des Herrn Geheimrat Ehrlich in Frankfurt verdanken.

Bei unseren Ueberimpfungen von Lewisi-Trypanosomen haben wir im Kaltblüter selbst niemals Trypanosomen gefunden, weder normale, noch verkleinerte, noch irgend welche Gebilde, die wir als Keime oder Dauerformen hätten ansprechen können. Erst durch eine erfolgreiche Rückimpfung auf Ratten wurde erwiesen, daß auch Lewisi-Trypanosomen

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

sich im Kaltblüter erhalten können. Solche Lewisi-Trypanosomenstämme, die wir in Mitteilung I Lewisi-KP. (KP. = Kaltblüterpassage) nannten, haben wir bei Passagen durch Nattern, Frösche und neuerdings auch durch Eidechsen erhalten. Die Virulenz der Lewisi-Trypanosomen wurde durch die Kaltblüterpassage gesteigert. Wie in Mitteilung I erwähnt, hatten wir dreimal einen für Ratten pathogenen Lewisi-Stamm gezüchtet; der in letzter Zeit durch Eidechsenpassage gewonnene Stamm (der Versuch ist noch im Gange) verläuft ebenfalls schon in sechs Ueberimpfungen tödlich für Ratten.

Als eine Steigerung der Virulenz fassen wir auch das auffallend rasche Auftreten der Trypanosomen nach der Ueberimpfung auf. Bei unseren als Ausgangsmaterial benutzten Trypanosomen dauerte die Inkubationszeit immer 3—4 Tage. Durch die Kaltblüterpassage verkürzt sich nach den ersten Rattenpassagen die Inkubationszeit ganz erheblich; die ersten Parasiten traten einige Male schon nach 7 Stunden, häufig nach 12 Stunden auf, und einen Tag nach der Infektion waren bereits alle Formen von Lewisi-Trypanosomen im Blute reichlich vertreten. Die ersten Rückimpfungen auf Ratten zeigen bei Lewisi-Trypanosomen ebenso wie bei den ähnlichen Versuchen mit Nagana-Trypanosomen eine bedeutende Verlängerung der Inkubationszeit. Jedenfalls mußten die durch die Kaltblüterpassage geschädigten Trypanosomen sich erst wieder von dem ungünstigen Nährmedium erholen. In den ersten Ratten finden wir auch nur die schlanken Formen, wie sie Rosenbusch[1]) u. a. als typisch für die chronische Lewisi-Infektion bezeichnen. Normalerweise treten, wie schon gesagt, frühestens 3—4 Tage nach der Infektion die ersten Parasiten im Kreislauf auf. Jürgens[2]), Rabinowitsch und Kempner[3]) u. a. haben gelegentlich eine Abkürzung der Inkubationszeit um 1—2 Tage beobachtet, doch handelt es sich dabei um Ratten, die ungewöhnlich stark infiziert worden

1) F. Rosenbusch, Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 15, Heft 3.

2) Jürgens, Beitrag zur Biologie der Rattentrypanosomen. Arch. f. Hyg., Bd. 22.

3) Rabinowitsch und Kempner, Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanosomen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 30.

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

waren, denen 0,5 bis 1 ccm infektiöses, mit Trypanosomen überschwemmtes Blut injiziert wurde. Hier war keine Abkürzung der Inkubationszeit eingetreten, sondern ein Ueberwandern des Impfmateriales in die Blutbahn. Denn trotz des schnellen Auftretens vereinzelter Parasiten beobachteten diese Autoren doch erst nach 3—4 Tagen eine merkliche Vermehrung der Trypanosomen. Auch fanden sie bei dieser kurzen Inkubationszeit niemals Vermehrungsformen oder kleine, junge Exemplare wie Fig. 24—29 und Fig. 30—33 sie zeigen, sondern nur alte erwachsene Trypanosommen, eine Beobachtung, die auch von Mesnil und Gazeau[1]) u. a. bestätigt wird. Es müßten doch bei der akuten Infektion zuerst feine, kleine (Fig. 30—33) neben großen breiten (Fig. 24—29) Formen mit hellem und dunklem Protoplasma und zahlreichen multiplen Teilungsformen auftreten. Bei der chronischen Infektion verschwinden die breiten Parasiten mit der multiplen Teilung; man findet dann nur die schlanken feinen Formen (Fig. 23), deren hinteres Ende spitz zuläuft, deren Kern länglich-oval und scharf durch eine Membran vom Plasma abgegrenzt ist. Teilungsformen findet man darin selten.

Anders bei unserem Lewisi-Trypanosomenstamm KP. Hier scheint durch Virulenzsteigerung wirklich eine Verkürzung der Inkubationszeit vorzuliegen. Die Ratten waren nur mit einem Tropfen Impfmaterial, der mit Kochsalzlösung verdünnt war, infiziert worden, so daß eine Ueberschwemmung mit Parasiten nicht stattfand. Daß es sich nicht um übergewandertes Impfmaterial handelte, geht auch daraus hervor, daß wir schon nach 12 Stunden alle Formen, sowohl die schlanken der chronischen, wie auch die großen breiten und die kleinen birnförmigen der akuten Infektion sahen. So sind Fig. 23 bis 33 aus Ratte B nach doppelter Kaltblüterpassage (Natter-Frosch). Alle hier gezeichneten Formen sind aus einem Präparat, das einen Tag nach der Infektion entnommen wurde. Es sind dies alles oft beschriebene Formen; uns fielen nur die großen, als typisch für die akute Infektion bekannten

1) Mesnil et Gazeau, Les Trypanosomes et leur rôle pathogène. Extr. des Archives de Médecine navale, 1901.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trypanosomen (Fig. 24—28) durch ihre außergewöhnliche Größe auf. Nach den Angaben der zahlreichen Autoren, die sich mit der Morphologie der Lewisi-Trypanosomen beschäftigt haben, schwankt die Größe der Lewisi-Trypanosomen zwischen 7 und 30 μ. Die nach Kaltblüterpassage von uns beobachteten erreichen eine Länge von 40 μ und mehr. Fig. 23 gibt die Durchschnittsgröße des zur Kaltblüterimpfung benutzten Ausgangsmateriales an. Neben diesen Formen treten gleichzeitig die unter Fig. 29—33 gegebenen Formen massenhaft auf.

Als atypisch fassen wir ferner das schnelle Aufnehmen des Farbstoffes auf. Es genügten oft wenige Minuten Einwirkung von Giemsa-Lösung, um die Flagellaten so scharf zu färben, wie wir es in der Zeichnung wiedergeben.

Neben diesen bekannten Formen, sahen wir Formen, wie sie uns im Laufe unserer durch Jahre hindurch gemachten Beobachtungen noch nicht begegnet waren, und die wir als eine durch die Kaltblüterpassage hervorgerufene Formveränderung ansprechen möchten. Es handelt sich hierbei nicht um ein einmaliges Sehen dieser Formen; wir haben sie nach Natterpassage in 4 Ratten, nach Natter-Froschpassage in 3 Ratten wiedergefunden. Es sind dies große schlanke, nicht verquollene Formen mit ovalem, scharf begrenztem Kern, scharf gefärbtem Blepharoplast und Geißel (Fig. 35—38). Im Protoplasma sieht man häufig fadenförmig angeordnete chromatinreiche Streifen (Fig. 38) oder wabenförmige Struktur des Protoplasmas (Fig. 37). Das hintere Ende ist ungewöhnlich lang ausgezogen, so daß es die Länge der Geißel übertrifft. Diese Verlängerung des Körpers, die aus homogenem Protoplasma besteht, scheint auch Bewegungen auszuführen; denn bei manchen Exemplaren ist diese hintere Verlängerung spiralig gewunden. Diese gewundene Form und die Tatsache, daß diese eigentümlich geformten Trypanosomen stets im ganzen Ausstrichpräparate verteilt und nicht etwa alle der Ausstrichrichtung nach entsprechend angeordnet sind, sondern in den verschiedensten Richtungen liegen, schließt die Annahme, daß es sich um ein Kunstprodukt handle, aus. Vermehrungsstadien haben wir bei diesen Formen nie beobachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fig. 35 und 36 sind aus einem Blutausstrich von Ratte L des Natter-Lewisi-Stammes am ersten Tage nach der Infektion. Neben diesen absonderlichen Formen ist es mit allen unter Fig. 23—33 gegebenen Stadien überschwemmt. Fig. 37 und 38 sind die gleichen Formen in Natter-Frosch-Lewisi-Stamm, Ratte D 5 Tage nach der Infektion.

Der von Wasielewski und Senn[1]) vertretenen Ansicht, daß solche Formen entstünden, wenn Trypanosomen an festen Substraten oder klebrigen Blutkörperchen haften blieben, können wir uns dem Aussehen unserer Präparate nach nicht anschließen.

Ob diese Formen sich denen, die von v. Prowazek[2]) einmal erwähnt, nähern, können wir nicht entscheiden. Er beschreibt eine ähnliche Form als bei erhöhter Teilungstätigkeit auftretendes Jugendstadium, das des formgebenden Prinzips, der Fibrillen, noch ermangelte. Es würde diese Ansicht v. Prowazeks sich unserer Annahme einer Virulenzsteigerung und dadurch erklärlicher beschleunigter Teilungsvorgänge angliedern lassen.

Die Trypanosomen sind offenbar in ihrer Virulenz und Form durch eine Aenderung des Nährbodens leicht zu beeinflussen. Jaffé[3]), Martini[4]), Doflein[5]) u. a. beschrieben derartige Veränderungen. T. Fellmer[6]) macht auf den Einfluß der Igelpassage auf Nagana-Trypanosomen aufmerksam. Wenn auch diese Beobachtung in der Publikation von R. Gonder und H. Sieber[7]) bestritten wird, so glauben

1) v. Wasielewski und Senn, Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33.

2) v. Prowazek, Studien über Säugetiertrypanosomen. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1905.

3) Jaffé, Formveränderung bei Trypanosomen der Nagana. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 50, 1909, p. 610.

4) E. Martini, Untersuchungen über die Tsetsekrankheit. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 50.

5) F. Doflein, Probleme der Protistenkunde. I. Die Trypanosomen. Jena 1909.

6) T. Fellmer, Veränderungen an Nagana-Trypanosomen durch Igelpassage. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 45, p. 512.

7) R. Gonder und H. Sieber, Experimentelle Untersuchungen über Trypanosomen. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 49, p. 321.

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

wir doch, daß diese Beobachtungen richtig sind, da sie durch eine Versuchsreihe von 20 Igeln gesehen wurden. Warum diese Veränderungen bei der Nachprüfung nicht eintraten, können wir nicht beurteilen. Kleine Verschiedenheiten der Stämme, Verschiedenheiten in den Versuchstieren spielen vielleicht eine größere Rolle, als wir heute annehmen.

Wie sehr Trypanosomen sich anpassen können, geht am deutlichsten aus den klassischen Versuchen Ehrlichs über die Gewöhnung von Trypanosomen an Stoffe, die ihnen zunächst in hohem Maße schädlich sind, hervor. Bei den Ehrlichschen Versuchen behielten die Trypanosomen ihre erworbenen Eigenschaften durch weitere Generationen dauernd bei. Wir konnten die Form- und Virulenzveränderungen bei unseren Stämmen auch wenigstens durch viele Generationen hindurch verfolgen. Erst nach vielen Rattenpassagen traten allmählich wieder normale Verhältnisse ein. In bezug auf die von Fellmer beobachteten Veränderungen durch Igelpassage sagt Schilling[1]): „Es ist in der freien Natur sehr wohl möglich, daß die Trypanosomen durch den Stich der Fliegen auf gewisse Tiere übertragen werden, welche die Virulenz der Parasiten für andere Tiere intensiv beeinflussen.“ Nach unseren jetzigen Versuchen erscheint die Annahme noch wahrscheinlicher. Vielleicht spielen die Krokodile, auf denen nach der Beobachtung von R. Koch die Glossinen Blut saugen, auch eine größere Rolle in der Entwicklung des Trypanosoma Gambiense.

Zusammenfassung.

Nagana- und Lewisi-Trypanosomen erfahren durch Kaltblüterpassagen eine Veränderung der Virulenz und der Form. Nagana-Trypanosomen lassen sich auch durch Käfer und Mollusken treiben und zeigen dann bei Rückimpfung auf Ratten Formveränderungen.

---

1) Schilling, Die neueren Fortschritte auf dem Gebiete der pathogenen Protozoen. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Referate, Bd. 42.

Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Figurenerklärung.

Alle Figuren sind mit Hilfe des Abbeschen großen Zeichenapparates angefertigt. Mikroskop Zeiss mit Kompensationsokular 18, homog. Immersion 2 mm, also eine Vergrößerung von ca. 2250.

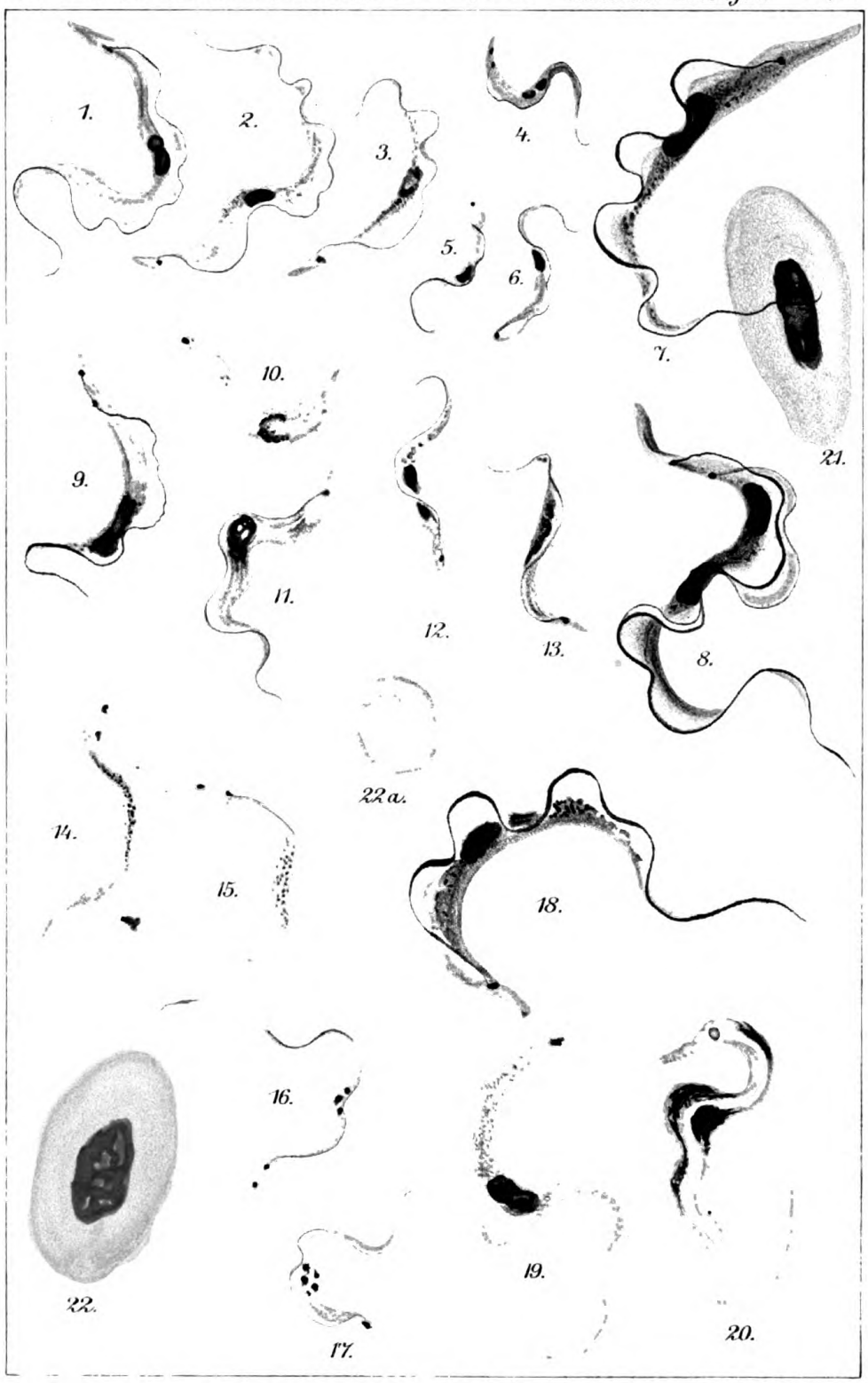
Tafel I.

Fig. 1. Normales Nagana-Trypanosoma, wie es zur Impfung für Kaltblüter benützt wurde.
Fig. 2–6. Nagana-Trypanosomen in der Ringelnatter.
Fig. 2. Trypanosomen 4 Tage nach der Infektion.
Fig. 3. Trypanosomen 5 Tage nach der Infektion.
Fig. 4, 5, 6. Trypanosomen 8 Tage nach der Infektion; Fig. 4 mit Kernteilung; Fig. 5 und 6 mit Cystenbildung.
Fig. 7 u. 8. Nagana-Trypanosomen von der Natter auf Ratten zurückgeimpft; Fig. 8 im Teilungsstadium.
Fig. 9—13. Nagana-Trypanosomen in der Schildkröte.
Fig. 9. Trypanosomen 2 Tage nach der Infektion, Teilungsstadium.
Fig. 10. Trypanosomen 2 Tage nach der Infektion, Zerfallsstadium.
Fig. 11—13. Trypanosomen 5 Tage nach der Infektion; Fig. 11 zeigt Cystenbildung.
Fig. 14—17. Nagana-Trypanosomen in der Eidechse. Fig. 14, 15, 16 im Teilungsstadium.
Fig. 18. Nagana-Trypanosomen in der Ratte nach einer Passage durch Waldlaufkäfer.
Fig. 19. Nagana-Trypanosomen in der Ratte nach einer Passage durch Dungpillenkäfer.
Fig. 20. Nagana-Trypanosomen in der Ratte nach einer Passage durch gelbe Waldschnecke.
Fig. 21. Rotes Blutkörperchen aus der Ringelnatter.
Fig. 22. Rotes Blutkörperchen aus der Schildkröte.
Fig. 22a. Rotes Blutkörperchen aus der Ratte.

Tafel II.

Fig. 23. Normales Lewisi-Trypanosoma der chronischen Infektion, wie es zur Impfung auf Kaltblüter benützt wurde.
Fig. 24—29. Breite Formen der akuten Infektion mit multiplen Teilungsformen.
Fig. 30—33. Kleine Formen der akuten Infektion.
Fig. 34. Rotes Blutkörperchen aus Rattenblut.
Fig. 35—36. Lewisi-Trypanosomen des Natter-Lewisi-Stammes in der 11. Rattenpassage 1 Tag nach der Infektion.
Fig. 37—38. Lewisi-Trypanosomen des Natter-Frosch-Lewisi-Stammes in der 4. Rattenpassage 5 Tage nach der Infektion.

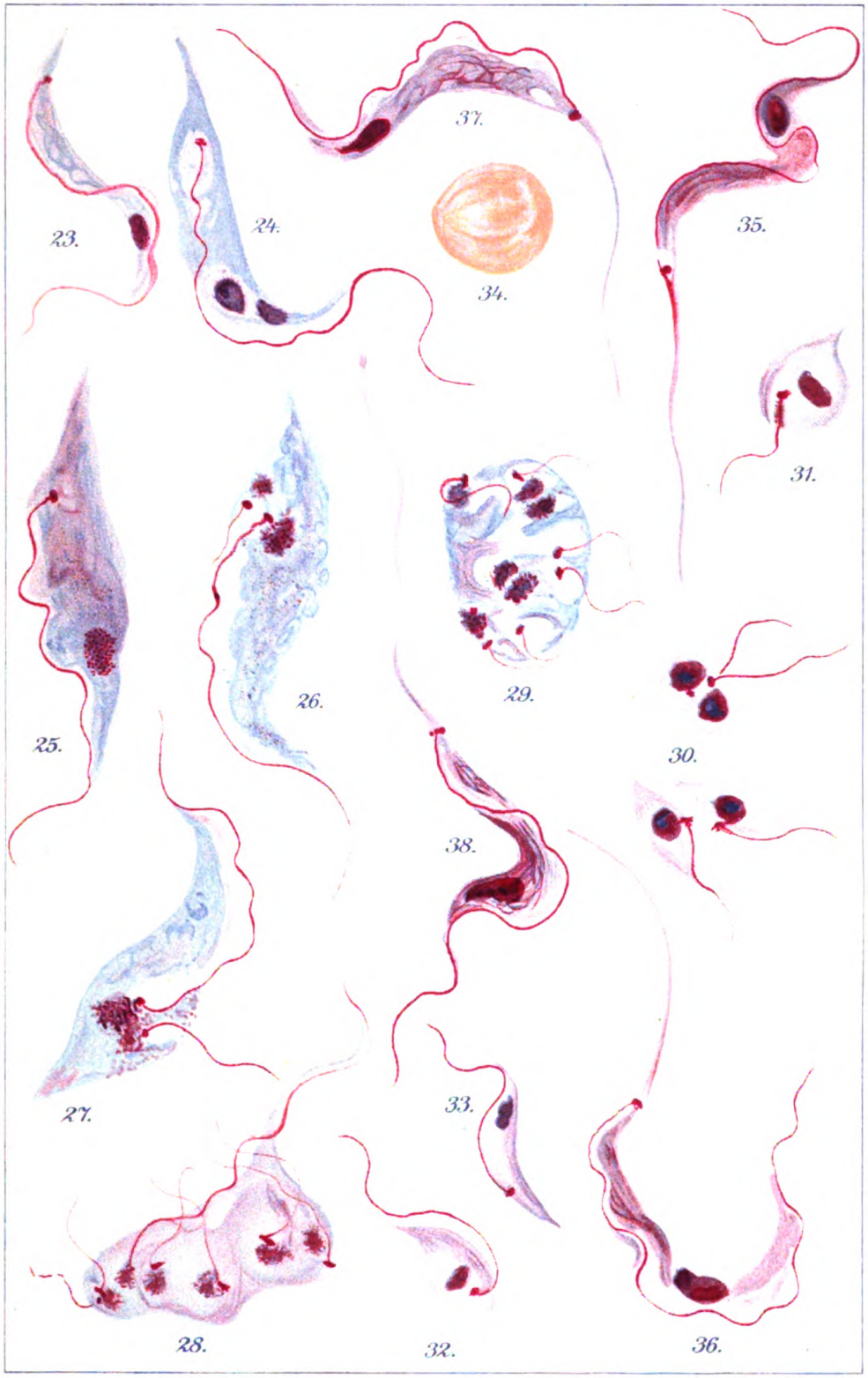
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA



Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Lith. Anst. v. F. Wesser, Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA



Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Lith. Anstv. K. Wesser, Jena.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle (Direktor: Geh.-Rat C. Fraenkel) und dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geh.-Rat Proskauer).]

Ueber Tuberkulose-Antikörper.

Von Prof. **G. Sobernheim.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Februar 1910.)

Schon vor längerer Zeit hatte ich in einer kurzen Mitteilung[1]) über Versuche berichtet, die sich mit den Eigenschaften des Tuberkuloseserums beschäftigten und insbesondere dessen Brauchbarkeit für differentialdiagnostische Zwecke ermitteln sollten. Im folgenden seien die damals nur nach ihren wichtigsten Ergebnissen vorgetragenen Experimente, die inzwischen mit gewissen Modifikationen wiederholt und durch neuere Untersuchungen ergänzt wurden, an der Hand der Protokolle ausführlicher erläutert.

Bei dem Studium der spezifischen Blutveränderungen, die im Verlaufe tuberkulöser Infektion innerhalb des Organismus Platz greifen, ist anfänglich und auch heute noch vorwiegend der erkrankte Mensch berücksichtigt worden. Auch haben sich die hierauf bezüglichen sehr zahlreichen Experimente wesentlich mit der Frage beschäftigt, inwieweit etwa derartige biologische Reaktionen zur Feststellung der Krankheit, zur Beurteilung des Krankheitszustandes und als Maßstab für die Behandlung und den Wert therapeutischer Maßnahmen heranzuziehen seien. Der Tierversuch trat in den Hintergrund. Die Herstellung hochwertiger Sera, die man durch systematische Immunisierung von Tieren erstrebte, wurde überdies meist nur im Hinblick auf therapeutische Zwecke unternommen, die Wirksamkeit der Sera dementsprechend nach ihren schützenden und heilenden Fähigkeiten untersucht. Ueber die Frage hingegen, welche in vitro nachweisbaren Eigenschaften das Serum hochimmunisierter Individuen besitzt, und ob diese sich, wie etwa die des Cholera-, Typhus- usw. Serums,

1) Centralbl. f. Bakt., Referate, Bd. 38, 1906 (1. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

für diagnostische und differentialdiagnostische Prüfungen verwerten lassen, lagen lange Zeit nur vereinzelte Berichte vor. Zum Teil ist dies wohl darin begründet, daß die Erkennung des Tuberkelbacillus auch ohne serodiagnostische Hilfsmittel in der Regel in einfachster Weise gelingt, andererseits aber hatte man bekanntlich bei den ersten diesbezüglichen Experimenten mit gewissen technischen Schwierigkeiten zu kämpfen. Immerhin schien es mir vom biologischen Standpunkt nicht ohne Interesse, einmal näher zu untersuchen, was auf dem angedeuteten Wege zu erreichen sei.

Ich habe mich daher bemüht, zunächst ein wirksames Tuberkuloseserum zu gewinnen und alsdann zu ermitteln, inwieweit dessen Eigenschaften, im besonderen das Agglutinationsvermögen eine feinere Differenzierung innerhalb der Gruppe der Tuberkelbacillen und der ihnen ähnlichen Arten, also eine Trennung des Tuberkelbacillus des Menschen von anderen Tuberkulosestämmen, sowie auch von den ferner stehenden säurefesten Saprophyten gestatten. Neben der Agglutination wurde auf Präzipitation, bakteriotrope Wirkung und Komplementbindung geachtet.

Auf die zahlreichen Arbeiten, die sich mit der Tuberkuloseagglutination beschäftigen, soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Aus der einschlägigen umfangreichen Literatur sei lediglich dasjenige hervorgehoben, was zu der eben kurz angedeuteten Fragestellung in engerer Beziehung steht.

Die ersten Versuche, das Agglutinationsvermögen hochwertiger Tuberkulosesera für differentialdiagnostische Zwecke zu verwenden, sind von R. Koch[1]) angestellt worden. Die Sera wurden von Tieren gewonnen, die mit abgetöteten und lebenden Kulturen vorbehandelt worden waren. Namentlich lieferten Ziegen, Esel und Pferde gute Sera. Als Testflüssigkeit diente eine in besonderer Weise bereitete Aufschwemmung von getrockneten und zu feinem Staube zerriebenen Tuberkelbacillen in Kochsalzlösung, mit einem Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure. Es zeigte sich dabei, daß das Tuberkuloseserum, das einen Agglutinationswert von 1 : 1000 und mehr besaß, nicht nur die Bacillen des Typus humanus, sondern auch Perlsuchtbacillen, Geflügeltuberkulose, Fischtuberkulose, Blindschleichentuberkulose, die Arloing-Courmontschen Bacillen, sowie alle daraufhin geprüften säurefesten Bacillen anscheinend ebenso gut agglutinierte. Umgekehrt wirkten

1) Deutsche med. Wochenschr., 1901, No. 48.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch Sera, die mit den Bakterien der Blindschleichentuberkulose und den Grasbacillen hergestellt wurden, auf menschliche Tuberkelbacillen und die ganze Reihe der eben erwähnten Stämme.

Zu etwas abweichenden Resultaten gelangten Courmont und Descos[1]). Zur Immunisierung wurden von ihnen Hunde benutzt, die teils mit Tuberkelbacillen des Menschen, teils mit säurefesten Kulturen (Binot und Korn I) behandelt wurden. Die ersteren lieferten schließlich ein Serum, das noch in stärkerer Verdünnung (1:200 bezw. 1:900) die Tuberkelbacillen agglutinierte, dagegen die säurefesten Arten so gut wie gar nicht beeinflußte. Mit den säurefesten Stämmen ließ sich ein agglutinierendes Serum von irgendwie nennenswerter Wirksamkeit überhaupt nicht gewinnen. Die Prüfung wurde stets mit den nach der bekannten Arloing-Courmontschen Methode homogenisierten Bakterien vorgenommen.

Arloing und Courmont[2]) stellten weitere Versuche an. Sie hatten 6 verschiedene Tuberkulosestämme, und zwar 3 Stämme menschlichen Ursprungs (A, H, R), 1 Rinderstamm (K), 2 Geflügelstämme zur Verfügung, mit denen Hunde subkutan und teilweise auch intraperitoneal vorbehandelt wurden. Die Agglutinationskraft der so erhaltenen Sera wurde gegenüber den 6 Kulturen geprüft und war in einigen Fällen eine recht beträchtliche (1:800, 900, 1200). Im einzelnen machten sich aber weitgehende Differenzen bemerkbar. So wurden die Geflügelstämme durch kein Serum beeinflußt, auch nicht durch das eigene bezw. homologe, obwohl diese Sera andere Kulturen, nämlich den Menschenstamm A und den Rinderstamm K, hoch agglutinierten. Die Menschenstämme verhielten sich untereinander ungleichmäßig. Während A und H auf die entsprechenden Sera gewöhnlich wechselseitig reagierten, erwies sich R als überhaupt nicht agglutinabel; auch das R-Serum, das auf die Stämme A und H stark agglutinierend wirkte, ließ ihn unberührt. Der H-Stamm büßte allmählich seine Agglutinierbarkeit ein, aber nicht die agglutininbildende Fähigkeit, denn das mit ihm erzeugte Serum agglutinierte noch die A-Kultur. Der Rinderstamm K endlich zeigte das gleiche Verhalten wie die Menschenstämme A und H; die Sera wirkten wechselseitig, d. h. das K-Serum agglutinierte auch die Menschenstämme und umgekehrt. Versuche, die Arloing und Courmont anfänglich mit dem Serum tuberkulöser Menschen und Rinder angestellt hatten, stimmten insofern mit den Ergebnissen des Tierexperiments überein, als die Sera ebenfalls auf Menschen- und Rinderstämme wirkten, nicht aber auf die Geflügelbakterien. Indessen waren die Resultate ungleichmäßig, der Titer der Sera gering (1:10—20), so daß diesem Teil ihrer Untersuchungen eine Beweiskraft kaum beizumessen ist.

Durch sorgfältige Experimente konnte J. Siegenbeek van Heukelom[3]) nachweisen, daß Kaninchen nach Vorbehandlung mit homogenen

1) Compt. rend. Soc. de Biol., 1902. — Journ. de Physiol. et Pathol. génér., T. 4, 1902.

2) Revue de la tuberculose, II sér., T. 1, 1904, H. 3 u. 5.

3) Inaug. Dissert. Leyden, 1905.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen (Arloing) ein Serum lieferten, das diesen Stamm hoch agglutinierte, die Kochschen Bacillen aber unberührt ließ.

Endlich fand Fritzsche[1]) bei vergleichenden Untersuchungen die Agglutination unzuverlässig und ungeeignet, eine Differenzierung zwischen den verschiedenen Arten der Tuberkelbacillen, der säurefesten Bakterien und der Aktinomyceten herbeizuführen. Auch hier ist der Einwand zu erheben, daß die verwendeten Sera, speziell die von Meerschweinchen gewonnenen viel zu schwach waren und nur einen Titer von 1:10, 1:25 und höchstens 1:50 besaßen.

Eigene Versuche.

Zur Gewinnung eines wirksamen Serums wurden ein Pferd und ein Rind in Behandlung genommen. Die Sera beider Tiere zeigten bei Beginn der Versuche, wie durch eine Vorprüfung festgestellt wurde, keinerlei spezifische Reaktionen. Das Serum des Pferdes wurde für die späteren Prüfungen vielfach zur Kontrolle als normales Pferdeserum verwendet und verhielt sich genau wie andere normale Pferdesera.

Die Immunisierung wurde vermittelst lebender Kulturen bewirkt. Bei dem Rinde wurde mit einem seit längerer Zeit im Laboratorium fortgezüchteten und wenig virulenten Stamm (T) begonnen und erst später eine hochvirulente Kultur (May) benutzt, bei dem Pferde von Anfang an diese letztere angewendet[2]). Beide Stämme gehörten nach Herkunft und charakteristischem kulturellen Verhalten dem Typus humanus an. Das Rind wurde mit subkutanen, das Pferd mit intravenösen Injektionen behandelt. Als Impfmaterial dienten Kulturen von 4—6 Wochen, auf Glycerinserum gezüchtet, die in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden. Zum Zweck genauer Dosierung wurde eine abgewogene Menge des Bakterienrasens im Achatmörser unter Zusatz einiger Tropfen Kochsalzlösung sehr sorgfältig zerrieben, bis keine größeren Partikelchen mehr wahrnehmbar waren, und alsdann weiterhin in entsprechender Weise mit Kochsalzlösung verdünnt. Es gelang so eine Aufschwemmung zu erhalten, die beim Aufschütteln eine ziemlich gleichmäßige Trübung zeigte

1) Inaug. Dissert. Zürich. München, R. Oldenbourg, 1908.

2) Ueber die Wirkung dieser wie auch der übrigen Tuberkulosestämme des Typus humanus, die den folgenden Prüfungen zugrunde lagen, vergl. Fraenkel und Baumann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und zur Injektion verwendet werden konnte. Die Impfungen wurden von dem Rinde mit geringfügigen Allgemeinerscheinungen und vorübergehendem mäßigen Temperaturanstieg vertragen; die Umgebung der Injektionsstelle war meist noch nach einigen Wochen durch eine harte Infiltration und derbe Knotenbildung unter der Haut erkennbar. Das Pferd hingegen reagierte auf die Einspritzungen jedesmal mit hohem Fieber und äußerst schweren Allgemeinerscheinungen, die gewöhnlich wenige Stunden nach der Impfung einsetzten und 2—3 Tage anhielten. Der Gang der Immunisierung ergibt sich im einzelnen aus der folgenden Zusammenstellung:

I. Rind (Impfungen subkutan).

2. Aug. 04 =	1 mg	Kultur	T.	(in	1	ccm)
20. Sept. 04 =	10 „	„	„	(„	10	„)
4. Nov. 04 =	100 „	„	„	(„	10	„)
22. Nov. 04 =	1 „	Kultur	May	(„	1	„)
16. Jan. 05 =	10 „	„	„	(„	1	„)
23. Febr. 05 =	50 „	„	„	(„	5	„)
25. April 05 =	50 „	„	„	(„	5	„)
25. Juni 05 =	50 „	„	„	(„	5	„)

II. Pferd (Impfungen intravenös).

4. Nov. 04 =	10 mg	Kultur	May	(in	1	ccm)
16. Jan. 05 =	70 „	„	„	(„	7	„)
23. Febr. 05 =	70 „	„	„	(„	7	„)
25. Juni 05 =	50 „	„	„	(„	5	„)
17. Nov. 05 =	30 „	„	„	(„	6	„)

Das Rind, das ein halbes Jahr nach der letzten Impfung getötet wurde, zeigte in seinen inneren Organen keinerlei tuberkulöse Veränderungen. Auch bei dem Pferde, das am 17. Januar 1906 im Anschluß an eine erneute intravenöse Injektion (30 mg Kultur May) einging, wurde nichts Abnormes konstatiert. Es erlag offenbar einer anaphylaktisch bedingten akuten Intoxikation.

Die Prüfung des Serums wurde in verschiedenen Stadien der Behandlung vorgenommen. Die Blutentnahme erfolgte zu diesem Zweck immer 2—3 Wochen nach der Impfung. Das Serum des Rindes hat hierbei niemals eine spezifische Agglutinationskraft zu erkennen gegeben. Obwohl das Tier beinahe 1 Jahr lang in Behandlung geblieben war, erfuhr die agglutinierende Wirkung des Serums nicht die geringste Steigerung gegenüber der Norm und beeinflußte die geprüften Stämme zum Schlusse kaum anders als

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorher. Eine Agglutination trat unter den von mir befolgten Versuchsbedingungen nur bis zur Verdünnung von 1:50, und zwar in ziemlich unvollkommener Weise zutage.

Anders verhielt sich das Pferdeserum. Schon nach der zweiten Injektion besaß es einen hohen Agglutinationswert, der in der Folge nicht mehr wesentlich zunahm. Die systematischen, vergleichenden Prüfungen wurden teils mit einem am 15. März 1905 gewonnenen Serum, teils mit einem Serum vom 3. Dezember 1905 ausgeführt. Meist wurde das Serum frisch, ohne Zusatz eines Konservierungsmittels, benutzt, doch zeigte auch das karbolisierte (0,5 Proz.) Serum lange Zeit noch eine zwar etwas verminderte, aber immerhin sehr deutliche und kräftige Agglutinationswirkung.

Hinsichtlich der Technik der Agglutinationsprüfung ging ich in Anlehnung an das Kochsche Verfahren so vor, daß das Kulturmaterial, nämlich der Rasen der auf erstarrtem Glycerinserum gewachsenen ca. 4—6-wöchigen Kulturen zunächst im Mörser unter Zusatz von karbolisierter (0,5-proz.) Kochsalzlösung verrieben wurde. Durch weitere Verdünnung mit Kochsalzlösung und wiederholtes Filtrieren der Flüssigkeit durch angefeuchtete Papierfilter wurden schließlich Aufschwemmungen gewonnen, die im Reagensglase fast völlig klar erschienen und nur in dickerer Schicht, z. B. im Erlenmeyer-Kölbchen, eine ganz leichte Opaleszenz zeigten. Auf eine genaue Dosierung wurde verzichtet, da es sich bei dieser Art des Vorgehens und dem sogleich zu besprechenden Prüfungsmodus als zweckmäßiger erwies, die richtige Konzentration der Aufschwemmungen einfach nach dem Auge zu beurteilen. Die Aufschwemmungen blieben in der Regel mehrere Wochen haltbar und konnten während dieser Zeit nach vorherigem Aufschütteln stets mit gutem Erfolg als Testflüssigkeit benutzt werden.

Die eigentliche Prüfung erfolgte fast regelmäßig, zuletzt sogar ausschließlich im Reagensglase mit bloßem Auge bezw. unter Zuhilfenahme der Lupe. Mehrfach wurde auch im Blockschälchen untersucht. Beide Methoden lieferten durchaus eindeutige und völlig übereinstimmende Ergebnisse. Nur wurde die Röhrchenmethode bevorzugt, weil sie bei größeren Versuchsreihen ein bequemeres Arbeiten gestattet. Das Resultat wurde gewöhnlich nach 48 Stunden notiert, und zwar so, daß die Röhrchen zunächst 24 Stunden bei 37°, alsdann nochmals ebenso lange bei Zimmertemperatur gehalten wurden. Gelegentlich wurde die Beobachtungszeit noch einen Tag länger ausgedehnt.

Die Agglutination verläuft, wie sich zeigte, bei einigen Stämmen etwas langsamer und ist nach 24 Stunden noch nicht sicher abzugrenzen. Die Kontrollen, ohne Serumzusatz, blieben auch nach 3 und 4 Tagen stets einwandfrei.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Agglutinationsprüfung erstreckte sich auf 51 verschiedene Kulturen. Hiervon gehörten 34 dem Typus humanus der Tuberkelbacillen an, 3 dem Typus bovinus. Ferner wurden untersucht 2 Stämme von Geflügeltuberkulose, 1 Blindschleichentuberkulose, 3 Arloing-Courmont-Stämme, 8 säurefeste Stämme.

Tabelle I [1]).

Agglutination menschlicher Tuberkulosestämme durch Tuberkuloseserum (Pferd).

Tuberkulosestamm	Serumverdünnung										Kontrollröhrchen
	1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	
May	+++	+++	++	++	++	+	+	+	∓	—	—
T.	+++	++	++	+	+	+	+	∓	—	—	—
M.	++	+++	++	+	+	+	+	∓	—	—	—
Wol.	+++	+++	++	++	++	+	+	+	∓	—	—
Pl.	++	+++	++	++	+	+	+	∓	—	—	—
Ln.	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—	—	—
R.	+++	+++	++	+	+	+	∓	—	—	—	—
Schr.	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—	—	—
U. II	+++	+++	++	+	+	+	∓	—	—	—	—
Els.	+++	+++	++	+	+	+	∓	—	—	—	—
Jg.	+++	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—	—
Hz.	+++	+++	++	+	+	+	+	∓	—	—	—
Bg.	+++	+++	++	+	+	+	∓	—	—	—	—
H. 1	+++	+++	++	++	+	+	+	—	—	—	—
Jon.	+++	+++	++	+	+	+	+	+	—	—	—
V.	+++	+++	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—
H. 9	++	++	++	++	++	+	+	∓	—	—	—
Dr.	++	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—	—
W.	++	++	++	++	++	+	+	∓	—	—	—
Pr.	+++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—
H. 8	++	+++	+++	++	++	++	+	∓	—	—	—
Wa.	++	++	++	++	++	+	+	∓	—	—	—
Li.	++	++	++	++	++	+	+	∓	—	—	—
H. 7	++	+++	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—
Kr.	+++	+++	+++	+++	++	+	∓	—	—	—	—
La.	++	+++	+++	++	++	+	+	∓	—	—	—
U. I	++	++	++	+++	++	+	—	—	—	—	—
U. III	+++	+++	++	+++	++	+	—	—	—	—	—
Leu.	+++	+++	+++	++	++	+	∓	—	—	—	—
H. 2	+++	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—	—
T. B. 1	+++	+++	++	++	+	+	+	—	—	—	—
T. B. 2	+++	+++	+++	+++	++	+	+	∓	—	—	—
Btg.	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—
St.	+++	+++	+++	+++	++	++	+	∓	—	—	—

1) Die Bezeichnungen bedeuten:
+++ = mit bloßem Auge größere Flocken erkennbar.
++ = mit bloßem Auge deutliche Körnchen erkennbar.
+ = mit bloßem Auge Agglutination gerade noch wahrzunehmen.
∓ = Agglutination mit Lupe erkennbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Agglutination menschlicher Tuberkulosestämme durch normales Pferdeserum.

Tuberkulose-stamm	Serumverdünnung							Kontroll-röhrchen
	1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	
May.	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
T.	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—
M.	+	+	+	∓	—	—	—	—
Wol.	+	+	∓	∓	∓	—	—	—
Pl.	+	∓	∓	∓	—	—	—	—
Ln.	∓	—	—	—	—	—	—	—
R.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
Schr.	∓	—	—	—	—	—	—	—
U. II	∓	∓	—	—	—	—	—	—
Els.	+	∓	∓	—	—	—	—	—
Jg.	+	∓	—	—	—	—	—	—
Hz.	+	∓	∓	—	—	—	—	—
Bg.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
H. 1	+	+	∓	—	—	—	—	—
Jon.	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
V.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
H. 9	∓	—	—	—	—	—	—	—
Dr.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
W.	+	+	∓	∓	—	—	—	—
Pr.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
H. 8	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
Wa.	+	+	∓	∓	—	—	—	—
Li.	+	+	∓	∓	—	—	—	—
H. 7	∓	∓	—	—	—	—	—	—
Kr.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
La.	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
U. I	∓	∓	—	—	—	—	—	—
U. III	∓	—	—	—	—	—	—	—
Leu.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
H. 2	+	∓	∓	—	—	—	—	—
T. B. 1	∓	∓	—	—	—	—	—	—
T. B. 2	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
Btg.	∓	∓	—	—	—	—	—	—
St.	+	∓	∓	—	—	—	—	—

In Tabelle I und II finden sich die Resultate zusammengestellt, welche sich für die menschlichen Tuberkulosekulturen ergaben. Es zeigt sich, daß sämtliche Stämme durch das Serum des immunisierten Pferdes stark und hoch agglutiniert wurden, wogegen die Wirkung des normalen Pferdeserums eine sehr unvollkommene ist. Das Immunserum beeinflußte die Stämme noch in der Verdünnung von 1 : 500—1 : 5000, wobei wiederholt beobachtet werden konnte, daß die stärkeren Konzentrationen (1 : 10) weniger

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kräftig wirkten als die zunächst folgenden Verdünnungen. Ein deutlicher Unterschied in der Agglutinierbarkeit der Kulturen, etwa in dem Sinne, daß man von leicht oder schwer agglutinablen Stämmen hätte sprechen können, fiel nicht auf. Geringe Differenzen, die sich mitunter am ersten Tage bemerkbar machten, glichen sich im weiteren Verlaufe aus, so daß sich nach 24—48 Stunden ein übereinstimmender Befund zu ergeben pflegte. Nur der Agglutinationstiter des Serums war für die einzelnen Stämme kein ganz gleichmäßiger, doch handelte es sich hierbei teilweise auch um gewisse Zufälligkeiten bei der Herstellung der verwendeten Aufschwemmungen. Sowohl die Konzentration dieser letzteren, wie namentlich auch das Alter der Bakterien spielten in dieser Hinsicht eine Rolle. Wurde die Testflüssigkeit ein wenig dichter hergestellt oder zur Abschwemmung ein Röhrchen benutzt, das älter als 4 bis 6 Wochen war, so stieg, wie in mehreren eigens hierauf gerichteten Versuchen gezeigt werden konnte, die Agglutinierbarkeit, und es wurde ein höherer Agglutinationswert erhalten. Damit war freilich für die Prüfung nicht viel gewonnen, denn in gleichem Maße war alsdann auch die Wirkung des normalen Pferdeserums gesteigert.

Die Agglutination der Stämme durch normales Serum (Tabelle II) blieb hinter der spezifischen Wirkung des Immunserums mindestens um das 10-fache, in manchen Fällen um das 20-, 40-, ja selbst 100-fache zurück. Auch war diese Agglutination so gut wie ausnahmslos immer nur eine unvollkommene.

Endlich sei erwähnt, daß das Tuberkuloseserum, im Gegensatz zu dem normalen Pferdeserum, in weitgehender Verdünnung mit Tuberkulin und Tuberkulol Präzipitation ergab.

Von besonderem Interesse ist das Ergebnis der Agglutinationsprüfung bei den Tuberkulosestämmen, die nicht dem Typus humanus angehörten (Tabelle III). Die 3 Kulturen von Rindertuberkulose, die zur Verfügung standen, verhielten sich fast genau wie die Menschentuberkulose, und wenn auch die Wirkung des Immunserums vielleicht nicht ganz so kräftig zum Ausdruck gelangte, so waren die Differenzen doch so

Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle III.

Agglutination von Kulturen der Rinder-, Geflügel- und Blindschleichentuberkulose durch Tuberkuloseserum und normales Pferdeserum.

Kultur	Serum	Serumverdünnung									Kontrollröhrchen
		1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	
Rindertub. I	Immunser.	+++	++	++	+	+	+	∓	∓	∓	—
	Normalser.	+	+	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
Rindertub. K.	Immunser.	++	++	++	+	+	+	∓	—	—	—
	Normalser.	+	+	∓	—	—	—	—	—	—	—
Rindertub. G. A.	Immunser.	++	++	++	++	+	∓	∓	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—
Geflügel I	Immunser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—
	Normalser.	∓	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Geflügel II	Immunser.	+	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—
Blindschleichentub.	Immunser.	+	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—

geringfügig, daß sie eine sichere Unterscheidung beider Typen nicht gestatteten. Von den beiden Stämmen der Geflügeltuberkulose reagierte der eine auf das Immunserum kaum höher als auf normales Pferdeserum, während der zweite eine gewisse spezifische Beeinflussung erkennen ließ. Indessen handelte es sich durchweg um eine äußerst schwache, nur mittels Lupe noch wahrzunehmende Agglutination, die nach ihrer Qualität mit derjenigen des Normalserums übereinstimmte und auf den ersten Blick von der groben Flocken- und Körnchenbildung bei den Säugetiertuberkelbacillen zu unterscheiden war. Das gleiche gilt von dem Stamm der Blindschleichentuberkulose. Auch hier wirkte das Tuberkuloseserum in stärkerer Verdünnung als das normale Serum, ohne daß man jedoch in irgend einem der Röhrchen eine echte, typische Agglutination gesehen hätte. Besonders deutlich trat die Unvollkommenheit dieser Wirkung bei der Beobachtung im Blockschälchen zutage. Während die Agglutination der Menschen- und Rindertuberkelbacillen immer durch das Auftreten größerer und kleinerer Bakterienhaufen charakterisiert war, sah man in dem anderen Falle lediglich stern- oder rosettenförmig gruppierte Bakterien, die als verhältnis-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mäßig feine Gebilde durch das Gesichtsfeld zerstreut lagen und sich niemals zu größeren Verbänden vereinigten.

Tabelle IV.

Agglutination von atypischen Tuberkulosestämmen durch Tuberkuloseserum und normales Pferdeserum.

Kultur	Serum	Serumverdünnung									Kontrollröhrchen
		1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	
Arloing-Courmont C.	Immunser.	+	∓	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—
	Normalser.	+	+	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—
Arloing-Courmont L.	Immunser.	∓	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
Arloing-Courmont Cg.	Immunser.	+	+	+	∓	∓	∓	∓	—	—	—
	Normalser.	+	+	+	∓	∓	∓	—	—	—	—
Tub. „Klein“	Immunser.	+	+	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—

Im Anschluß hieran sei über 4 Tuberkulosestämme berichtet, die sich nach ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten auf das deutlichste von den typischen Bacillen der Menschentuberkulose unterschieden. Außer 3 Vertretern der bekannten Arloing-Courmontschen Varietät zählte hierzu ein unter der Bezeichnung „Klein“ in der Institutssammlung seit längerer Zeit fortgezüchteter Stamm, der durch ziemlich rasches Wachstum und Bildung eines verhältnismäßig feuchten Rasens ausgezeichnet war. Keine dieser Kulturen reagierte bei der Agglutinationsprüfung wie echte Tuberkelbacillen. Durch Tuberkuloseserum wurden sie zwar meist noch in stärkeren Verdünnungen agglutiniert, doch war die Wirkung durchgängig eine sehr schwache und unvollkommene; überdies wurden die 3 Arloing-Courmontschen Stämme durch normales Pferdeserum fast genau in der gleichen Weise agglutiniert. Die Kulturen dieser Gruppe verhielten sich wie die gewöhnlichen säurefesten Arten (vergl. Tabelle V). Es ist bemerkenswert, daß sich die „homogenisierten“ Arloingschen Kulturen, die ja nach mancher Richtung Besonderheiten aufweisen, auch serobiologisch von den sonstigen Tuberkelbacillen des Menschen differenzieren lassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Agglutination säurefester Stämme durch Tuberkuloseserum (Pferd) und normales Pferdeserum.

Stamm	Serum	Serumverdünnung									Kontroll-röhrchen
		1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	
Korn I	Immunser.	+	+	+	∓	∓	—	—	—	—	—
	Normalser.	+	+	∓	∓	—	—	—	—	—	—
Korn II	Immunser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—
Mistpilz	Immunser.	+	∓	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—
	Normalser.	+	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—	—
Smegma	Immunser.	+	+	∓	∓	∓	∓	∓	—	—	—
	Normalser.	+	+	∓	∓	—	—	—	—	—	—
Rabinowitsch	Immunser.	+	+	∓	∓	∓	—	—	—	—	—
	Normalser.	∓	∓	—	—	—	—	—	—	—	—
Graspilz	Immunser.	+	+	+	+	∓	∓	∓	∓	—	—
	Normalser.	+	+	+	+	+	∓	∓	∓	—	—
Timotheebac.	Immunser.	+	+	+	+	+	+	∓	—	—	—
	Normalser.	+	+	+	+	+	+	+	∓	—	—

Was endlich die säurefesten Bakterien anlangt, so lehrt ein Blick auf die in Tabelle V zusammengestellten Resultate, daß von den geprüften Kulturen keine einzige in typischer Weise agglutiniert wurde. Ueberall erwies sich die Wirkung als eine äußerst unvollkommene, selbst wenn sie sich noch bei ziemlich weitgehender Verdünnung des Serums nachweisen ließ, und entbehrte in der Regel auch des spezifischen Charakters. Es verdient ferner hervorgehoben zu werden, daß eine und dieselbe Kultur bei wiederholten Versuchen mitunter verschiedene Ergebnisse lieferte und bald höher, bald geringer agglutiniert wurde, ohne indessen jemals eine gute Agglutination zu zeigen. Demgegenüber wurden bei der Prüfung der Menschen- und auch Rindertuberkelbacillen stets gleichmäßige Resultate erhalten.

Die Trennung der Säugetierbacillen von anderen Tuberkulosestämmen und von den säurefesten Arten war somit auf dem Wege der Agglutinationsprüfung gelungen. Die Unterschiede traten bei der Beobachtung der Röhrchen und Schälchen immer in recht prägnanter Weise zutage, fast deutlicher, als dies durch eine Beschreibung und eine tabellarische

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aufstellung wiedergegeben werden kann. Die Körnchen- und Flockenbildung bei der echten Agglutination der Tuberkelbacillen bot ein ganz anderes Bild, als die mit bloßem Auge kaum sichtbare feinkörnige Trübung, mit der die übrigen Arten reagierten, soweit bei diesen letzteren nicht überhaupt jede Wirkung ausblieb. Auch das verschiedenartige Verhalten der Kontrollen mit normalem Pferdeserum erleichterte die Unterscheidung beider Bakteriengruppen. Nur die Rindertuberkelbacillen konnten auf diesem Wege nicht von der Menschentuberkulose getrennt werden. Typus humanus und Typus bovinus zeigten hierbei, wie erwähnt, eine sehr weitgehende Uebereinstimmung; die Agglutination war nach Charakter und Intensität bei beiden Arten etwa die gleiche. Versuche, durch Ausfällung der Agglutinine mit dem einen oder anderen Stamm eine spezifische Differenzierung zu erreichen, führten zu keinem eindeutigen Resultat.

Durch weitere Experimente sollte festgestellt werden, ob das Tuberkuloseserum noch über andere Wirkungen verfügte, die etwa gleichfalls für differentialdiagnostische Zwecke verwendet werden könnten. Die Untersuchungen erstreckten sich auf bakteriotrope Stoffe und auf Komplementbindung.

Für den Nachweis bakteriotroper Wirkungen wurde so verfahren, daß eine dichte Aufschwemmung der Bakterien in Kochsalzlösung (0,3 ccm) zunächst mit dem inaktivierten Serum gemischt und $^1/_2$—1 Stunde bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Alsdann folgte Zusatz von 0,2—0,3 ccm mehrmals gewaschener Meerschweinchenleukocyten. Die Röhrchen wurden bei 37° gehalten und Proben in gewissen Zwischenräumen derart untersucht, daß von dem leukocytenreichen Bodensatz, der der Kuppe des Reagensglases ziemlich fest anhaftete, eine kleine Menge entnommen und in der üblichen Weise mit Karbolfuchsin-Methylenblau gefärbt wurde. In jedem Versuch diente ein Röhrchen mit normalem Pferdeserum und ein zweites ohne jeden Serumzusatz, das also nur Bakterien und Leukocyten enthielt, zur Kontrolle.

Die Serummenge, die erforderlich war, um eine deutliche Reaktion zu erhalten, wurde nach vielen Vorversuchen mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0,02 ccm am günstigsten gefunden. Eigentlich war dies überhaupt die einzige Konzentration, mit der sich ein einwandfreies Resultat erzielen ließ, da bei weiterer Verdünnung des Serums der bakteriotrope Effekt sehr bedeutend nachließ, andererseits aber bei Steigerung der Serumdosis die Ueberlegenheit des Immunserums nicht mehr zutage trat, das normale Serum vielmehr eine ebenso rasche und starke Phagocytose bewirkte.

Wurde die Versuchsanordnung und Dosierung in der eben erwähnten Weise getroffen, so ließ sich für das Tuberkuloseserum eine deutliche phagocytosebefördernde Wirkuug nachweisen, die gewöhnlich nach 2 Stunden ihren Höhepunkt erreichte und die relativ schwache gleichartige Wirkung des normalen Serums bei weitem übertraf. Präparate, die von beiden Proben zu gleicher Zeit angefertigt wurden, zeigten die mit Immunserum behandelten Bakterien meist vollständig von Leukocyten aufgenommen und höchstens vereinzelte frei liegende Stäbchen, wogegen es unter dem Einfluß des normalen Serums immer nur zu einer unvollkommenen Phagocytose kam, so daß eine mehr oder minder große Zahl von Bakterien außerhalb der Leukocyten angetroffen wurde. Die Leukocyten allein, ohne jeden Serumzusatz, übten, wie die entsprechenden Kontrollen ergaben, eine nennenswerte Wirkung auch nach längerer Einwirkungsdauer (bis 24 und 48 Stunden) nicht aus.

In Tabelle VI sind einige Versuche aufgeführt. Es geht daraus zugleich hervor, daß die bakteriotrope Wirkung des Tuberkuloseserums des streng spezifischen Charakters entbehrt, insofern, als genau wie die Tuberkelbacillen auch andere säurefeste Stämme beeinflußt werden. Smegmabacillen und die Kultur Korn I zeigten im Phagocytoseversuch völlige Uebereinstimmung mit den drei Stämmen des Typus humanus (H. VIII, May, Wa.), so daß eine biologische Differenzierung der verschiedenen Arten mit Hilfe der bakteriotropen Serumreaktion nicht möglich war. In ähnlicher Weise fand Much[1]) mehrere menschliche Tuber-

1) Münchener med. Wochenschr., 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kulosesera in ihrer phagocytoseerregenden Wirkung gegenüber Menschenstämmen, Perlsuchtbacillen und homogenen Arloing-Kulturen ganz gleichwertig. Löwenstein[1]) hingegen machte mit einem Kaninchenserum Beobachtungen, welche für eine gewisse Spezifität sprachen; ein Stamm von Menschentuberkulose wurde deutlich bakteriotrop beeinflußt, wogegen Hühner- und Blindschleichenbacillen unberührt blieben.

Tabelle VI.

Bakteriotrope Wirkung des Tuberkuloseserums.

Kultur	Leukocyten	Phagocytose[2]) nach						
		15′	45′	1½ʰ	2ʰ	4ʰ	24ʰ	48ʰ
Tub. H. VIII	Leukoc. + NaCl	—	—	—	∓	∓	∓	.
„ „ „	Leukoc. + normales Pferdes.	—	∓	∓	+	+	+	.
„ „ „	Leukocyt. + Immunserum	∓	+	++	+++	+++	+++	.
Tub. „May“	Leukoc. + NaCl	.	∓	∓	∓	∓	—	.
„ „	Leukoc. + normales Pferdes.	.	∓	+	+	+	+	.
„ „	Leukocyt. + Immunserum	.	∓	++	++	++	++	.
Tub. „Wa.“	Leukoc. + NaCl	.	∓	.	+	.	+	+
„ „	Leukoc. + normales Pferdes.	.	∓	.	++	.	++	++
„ „	Leukocyt. + Immunserum	.	++	.	+++	.	+++	+++
Smegma	Leukoc. + NaCl	.	∓	∓	∓	∓	∓	.
„	Leukoc. + normales Pferdes.	.	∓	+	+	++	++	.
„	Leukocyt. + Immunserum	.	+	++	+++	+++	+++	.
Korn I	Leukoc. + NaCl	.	∓	.	∓	.	∓	∓
„ „	Leukoc. + normales Pferdes.	.	∓	.	+	.	+	∓
„ „	Leukocyt. + Immunserum	.	++	.	+++	.	+++	++

1) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55, 1906.

2) +++ = sämtliche Bakterien in Leukocyten eingeschlossen; keine frei liegenden Stäbchen sichtbar.

++ = zahlreiche Bakterien intrazellulär, aber auch frei liegende Exemplare.

+ = meist freiliegende Bakterien. Phagocyten nicht sehr zahlreich.

∓ = vereinzelte Phagocyten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bezüglich der komplementbindenden Fähigkeiten des Serums war ich anfänglich zu völlig negativen Ergebnissen gelangt. Bei Benutzung von Bakterienaufschwemmungen oder Tuberkulin als Antigen wollte es unter vielfach modifizierten Versuchsbedingungen niemals gelingen, eine deutliche Komplementablenkung zu erhalten. Auch keimfreie Filtrate älterer Bouillonkulturen versagten als Antigen. Nachdem durch Bordet und Gengou[1]), Ruitinga[2]), Wassermann und Bruck[3]) u. a. festgestellt war, daß sich unter gewissen Verhältnissen im Tuberkuloseserum komplementbindende Antikörper nachweisen lassen, eine Tatsache, die heute durch zahlreiche Beobachtungen und Experimente bestätigt ist, war es entschieden sehr auffallend und unerwartet, daß meine eigenen Versuche mit dem mir zur Verfügung stehenden hochwertigen Serum so ganz ergebnislos verliefen. An der Methodik konnte es unmöglich liegen, denn trotz sorgfältiger Berücksichtigung der Dosierung, Aenderung des hämolytischen Systems (Rinderblutkörperchen + Kaninchenambozeptor, Hammelblutkörperchen + Meerschweinchen- und Kaninchenambozeptor) usw. trat keine spezifische Reaktion ein. Freilich ergibt eine Durchsicht der einschlägigen Literatur, daß Tiere selbst nach sehr intensiver Vorbehandlung oft kein komplementbindendes Serum erlangen, die Entstehung dieser Art von Antikörpern also offenbar keineswegs als sichere und regelmäßige Reaktion des Organismus zu betrachten ist. Aus eigener Erfahrung kann ich dies weiterhin dadurch bestätigen, daß z. B. Kaninchen, die längere Zeit mit Tuberkulin intravenös und intraperitoneal behandelt wurden, mir kein wirksames Serum lieferten.

Erst nach längerer Zeit der Aufbewahrung, nach ungefähr einem Jahre, gab das Pferdeserum bei erneuter Prüfung deutliche komplementbindende Eigenschaften zu erkennen. Der letzte, 3 Monate früher ausgeführte Versuch war noch negativ ausgefallen. Diese Wirkung des Serums erfuhr anscheinend

1) Compt. rend. de l'Acad., T. 137, 1903.
2) Ned. Tijdschr. v. Geneesk., 1903.
3) Deutsche med. Wochenschr., 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weiterhin eine Steigerung und ist augenblicklich, nach mehr als 4 Jahren, noch in sehr ausgesprochenem Maße vorhanden. Es hatte sich also in dem Serum eine höchst auffällige Veränderung vollzogen, indem die anfänglich fehlende komplementbindende Fähigkeit erst allmählich zur Entwicklung gelangte. Dabei zeigte sich, daß die ursprünglich vorhandenen spezifischen Eigenschaften, agglutinierende und bakteriotrope, bemerkenswerterweise fast in dem gleichen Maße abnahmen und verloren gingen. Der Phagocytoseversuch führte schon nach kaum $^{3}/_{4}$-jähriger Aufbewahrung des Serums zu keinem Resultat mehr, und die früher sehr erhebliche Agglutinationskraft ist seit etwa 2 Jahren auf die Höhe des normalen Pferdeserums gesunken. Nur bis zur Verdünnung 1:50 läßt sich noch eine schwache, unvollkommene Wirkung verfolgen. Das gleiche gilt von der Präzipitation.

Dieses eigentümliche Verhalten des Serums zeigt jedenfalls, daß die verschiedenen Immunstoffe, Agglutinine, Bakteriotropine und komplementbindende Antikörper, auseinander gehalten werden müssen. Agglutination und bakteriotrope Wirkung ließen von Anfang an außerordentliche quantitative Differenzen erkennen. Zwischen Agglutination und Komplementbindung aber bestand nicht nur kein Parallelismus, sondern geradezu eine Art von antagonistischer Wirkung. Erst mit dem Erlöschen der agglutinierenden Fähigkeiten gab das Serum die Komplementbindungsreaktion. Ob zwischen diesen beiden Vorgängen ein innerer Zusammenhang besteht, ob die Agglutination das Zustandekommen des anderen Phänomens etwa hindert, und umgekehrt, ist einstweilen schwer zu entscheiden. Uebrigens ist verschiedentlich in neueren Arbeiten gerade darauf hingewiesen worden, daß Agglutination und Komplementbindung bei dem Tuberkuloseserum gewöhnlich nicht nebeneinander angetroffen werden. So erhielten Christian und Rosenblat[1]) bei Meerschweinchen und Kaninchen, die sie in besonderer Weise mit Emulsionen von Tuberkelbacillen behandelten, Sera, die eine mehr oder minder

1) Münchener med. Wochenschr., 1908, No. 39.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

starke spezifische Agglutinationskraft besaßen, aber keine Komplementbindung gaben. Vallée[1]) fand wiederum umgekehrt das Serum immunisierter Pferde bei der Prüfung nach der Bordet-Gengouschen Methode wirksam, ohne daß jemals agglutinierende Eigenschaften nachweisbar waren. Auch eigene Versuche mit einem später noch zu erwähnenden Ziegenserum bestätigen derartige Beobachtungen. In diesem Zusammenhange sei ferner auf Experimente von Haentjens[2]) hingewiesen, der in einem von Hunden gewonnenen Tuberkuloseserum nur phagocytosebefördernde, niemals aber komplementbindende Stoffe fand. Vergl. auch Slatineanu und Danielopolu[3]) und Bezançon und de Serbonnes[4]).

Es galt nunmehr zu untersuchen, inwieweit die Komplementbindung spezifischen Charakter trägt und zur Abgrenzung der verschiedenen Arten von Tuberkulose- und säurefesten Stämmen geeignet ist. Zu diesem Zwecke wurden, entsprechend der Kochschen Vorschrift für die Herstellung des Alttuberkulins, aus den zu prüfenden Kulturen Tuberkuline bereitet, die in fallenden Mengen mit einer bestimmten Dosis des inaktivierten Serums gemischt wurden. Als hämolytisches System dienten Hammelblutkörperchen und Kaninchenambozeptor. Das Komplement (Meerschweinchen) wurde immer in der Dosis von 0,1 ccm verwendet. Zur Kontrolle wurde außer dem Tuberkuloseserum auch normales Pferdeserum genau in der gleichen Versuchsanordnung geprüft. Eigenhemmung des Serums, und zwar des normalen wie des Immunserums, ließ sich noch in der Dosis von 0,1—0,05 nachweisen. Zur Anstellung der Reaktion wurde daher eine Serummenge von 0,02—0,05 ccm verwendet. Die Tuberkuline zeigten durchschnittlich bis 0,1 ccm Eigenhemmung.

Die Resultate der Komplementbindung finden sich in den folgenden Tabellen VII a und VII b zusammengestellt. Die

1) Annal. de l'Instit. Pasteur, 1909.

2) Zeitschr. f. Tuberkulose, Bd. 9, 1906 und Münchener med. Wochenschrift, 1907.

3) Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 64, 1908; Bd. 66, 1909.

4) Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 67, 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kontrollen, die in der erforderlichen Weise jedesmal vorgenommen wurden, sind hier nicht besonders aufgeführt.

Tabelle VII a.

Komplementbindung.

Tuberkuline aus Tuberkulose- und säurefesten Kulturen, geprüft mit Tuberkuloseserum (Pferd) und normalem Pferdeserum.

Serum	Tuberkulin	Resultat
	I. Tuberkuloseserum (Pferd).	
0,02	0,05 L. (Typ. hum.)	völlige Hemmung
0,02	0,02	dgl.
0,02	0.01	starke Hemmung
0,02	0,005	dgl.
0,02	0,001	gelöst
0,02	0,05 Courmont	völlige Hemmuug
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	dgl.
0,02	0,005	starke Hemmung
0,02	0,001	gelöst
0,02	0,05 Mistpilz	völlige Hemmung
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	„
0,02	0,005	„
0,02	0,001	„
0,02	0,05 Graspilz	völlige Hemmung
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	„
0,02	0,005	„
0,02	0,001	„
0,02	0,05 Korn I	völlige Hemmung
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	dgl.
0,02	0,005	starke Hemmung
0,02	0,001	fast gelöst
0,02	0,05 Korn II	völlige Hemmung
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	dgl.
0,02	0,005	starke Hemmung
0,02	0,001	fast gelöst
0,05	0,05 Typ. bov. „Perlsucht“	starke Hemmung
0,05	0,02	dgl.
0,05	0,01	mäßige Hemmung
0,05	0,005	dgl.
0,05	0,002	schwache Hemmung
0,05	0,001	fast gelöst
0,05	0,0005	gelöst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum	Tuberkulin	Resultat
0,05	0,05 Geflügel I	starke Hemmung
0,05	0,02	dgl.
0,05	0,01	mäßige Hemmung
0,05	0,005	fast gelöst
0,05	0,002	gelöst
0,05	0,001	dgl.
0,05	0,05 Timotheebac.	starke Hemmung
0,05	0,02	dgl.
0,05	0,01	mäßige Hemmung
0,05	0,005	schwache Hemmung
0,05	0,002	dgl.
0,05	0,001	gelöst
	II. Normales Pferdeserum.	
0,02	0,05 L. (Typ. hum.)	fast gelöst
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	gelöst
0,02	0,005	„
0,02	0,001	„
0,02	0,05 Courmont	gelöst
0,02	0,02	„
0,02	0,01	„
0,02	0,005	„
0,02	0,001	„
0,02	0,05 Korn I	fast gelöst
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	gelöst
0,02	0,005	„
0,02	0,001	„
0,05	0,05 Typ. bov. „Perlsucht“	gelöst
0,05	0,02	„
0,05	0,01	„
0,05	0,005	„
0,05	0,002	„
0,05	0,001	„
0,05	0,05 Geflügel I	gelöst
0,05	0,02	„
0,05	0,01	„
0,05	0,005	„
0,05	0,002	„
0,05	0,001	„
0,05	0,05 Timothee	gelöst
0,05	0,02	„
0,05	0,01	„
0,05	0,005	„
0,05	0,002	„
0,05	0,001	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII b.

Komplementbindung.

Tuberkuloseserum (Pferd) und Schüttelextrakte.

Serum	Extrakt	Resultat
0,02	0,2 Typ. hum. U. II	völlige Hemmung
0,02	0,1	dgl.
0,02	0,05	starke Hemmung
0,02	0,02	dgl.
0,02	0,01	schwache Hemmung
0,02	0,5 Typ. bov. „9 g“	völlige Hemmung
0,02	0,25	dgl.
0,02	0,1	dgl.
0,02	0,05	starke Hemmung
0,02	0,02	fast gelöst
0,02	0,5 Mistpilz	völlige Hemmung
0,02	0,25	dgl.
0,02	0,1	starke Hemmung
0,02	0,05	mäßige Hemmung
0,02	0,02	gelöst

Das Ergebnis läßt sich in wenigen Worten ausdrücken. Sämtliche Tuberkuline reagieren sehr deutlich und geben noch in starker Verdünnung mit dem Tuberkuloseserum Komplementbindung. Dabei ist auch in quantitativer Hinsicht zwischen den einzelnen Tuberkulinen, im besonderen zwischen dem der Menschenbacillen einerseits, dem der Rinder-, Geflügelbacillen und säurefesten Arten andererseits ein nennenswerter Unterschied kaum zu konstatieren. Gewisse Differenzen erklären sich zwanglos aus dem ungleichen Gehalt der Tuberkuline an wirksamer Substanz, was sich schon äußerlich durch die hellere oder dunklere Färbung des Präparates zu erkennen gab. Da die schwächere oder üppigere Entwicklung der Ausgangskultur naturgemäß für die Konzentration des schließlich gewonnenen Tuberkulins von Bedeutung ist, so ist es nicht auffallend, daß z. B. gerade die Tuberkuline der besonders rasch und kräftig wachsenden Mist- und Graspilze eine stärkere Reaktion gaben als das Tuberkulin der Menschenbacillen.

Normales Pferdeserum war so gut wie unwirksam (Tabelle VII a, II). Damit ist erwiesen, daß die wirksamen Stoffe erst unter dem Einfluß der Immunisierung im Serum zur Entwick-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lung gelangten. Daß es sich aber tatsächlich um spezifische Antikörper („Antituberkulin") handelt, nicht etwa um Antialbumosen, die sich einfach gegen die Albumosen des verwendeten Kulturmediums richten, — eine Möglichkeit, die zuerst von Morgenroth und Rabinowitsch[1]) in Betracht gezogen, von H. Koch[2]) experimentell erwiesen wurde — darf wohl schon daraus geschlossen werden, daß in diesem Falle das Serum mit Kochsalzaufschwemmungen der Bakterien erzeugt worden war. Auch hätte ja dann die Wirkung aller Tuberkuline, als einer auf den zehnten Teil eingeengten Bouillon, quantitativ völlig genau übereinstimmen müssen. Ueberdies ergaben einige Versuche, welche in der Weise angestellt wurden, daß statt des Tuberkulins Schüttelextrakte als Antigen dienten, eine ebenso vollkommene Komplementbindung (Tabelle VII b). Christian und Rosenblat[3]), Citron[4]), Fritzsche[5]) u. a. haben das gleiche durch ähnliche Versuchsanordnung gezeigt. Was aber an dem Ausfall aller dieser Experimente in erster Linie interessiert, ist die gleichmäßige Beeinflussung der ganzen Bakteriengruppe. Im Gegensatz zur Agglutination erweist sich hier die Komplementbindung als eine Gruppenreaktion, welche bei der gewählten Versuchsanordnung die feineren biologischen Differenzen zwischen den verschiedenen Arten nicht aufzudecken vermag. Nicht nur, daß die nahe verwandten Varietäten der Tuberkulose auf diesem Wege voneinander nicht getrennt werden können, geben sogar die leicht unterscheidbaren säurefesten Saprophyten die gleiche Reaktion wie echte Tuberkelbacillen. Meine Resultate decken sich in dieser Hinsicht mit den Angaben von Bordet und Gengou[6]), Dembinsky[7]) sowie Gengou[8]), welche eine artspezifische Komplementbindung nicht feststellen konnten. So fand Gengou,

1) Deutsche med. Wochenschr., 1907.
2) Münch. med. Wochenschr., 1909.
3) l. c.
4) Berliner klin. Wochenschr., 1907.
5) l. c.
6) l. c.
7) Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 57, 1904.
8) Berliner klin. Wochenschr., 1906.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß bei Meerschweinchen und auch Kaninchen durch Injektion von Tuberkelbacillen bezw. säurefesten Bakterien Sera zu erzielen sind, die nicht nur mit dem homologen Stamm, sondern auch, abgesehen von wenigen Ausnahmen, mit anderen säurefesten sowie Rinder-, Menschen- und Hühnertuberkelbacillen komplementbindend reagieren. Etwas abweichend sind die Beobachtungen von Leber[1]) und Fritzsche; beide fanden mitunter spezifische Differenzen zwischen den verschiedenen Bakterienarten.

Die bisher beschriebenen Experimente wurden mit einem einzigen Serum, dem Serum eines immunisierten Pferdes angestellt. Es war daher erwünscht, diese Versuche mit einem anderen Serum zu wiederholen und nachzuprüfen. Hierzu bot sich mir Gelegenheit, als ich in den Besitz eines Ziegentuberkuloseserums[2]) gelangte. Die Ziege erhielt in ungefähr 2—3-wöchigen Zwischenräumen intravenöse Einspritzungen ganz geringer Mengen einer Kultur des Typus humanus. Begonnen wurde mit $^1/_{10}$ mg. Nach der Injektion von 20 mg wurde ein sehr wirksames Serum erhalten.

Die Prüfung des Serums erstreckte sich auf Agglutination und Komplementbindung, außerdem wurde die präzipitierende Wirkung auf Tuberkulin untersucht. Soweit erforderlich, wurde normales Ziegenserum zur Kontrolle herangezogen. Eine Auswahl von Kulturen des Typus humanus, des Typus bovinus und einiger säurefester Arten gelangte bei diesen Experimenten zur Verwendung. Drei neue Stämme von Rindertuberkulose, welche in den früheren Tabellen nicht aufgeführt sind, habe ich erst in letzter Zeit erhalten. Ich verdanke sie Herrn Obertierarzt Dr. Bongert; sie sind von diesem aus Organen tuberkulöser Rinder direkt, ohne Tierpassage, gewonnen worden.

Die Ergebnisse finden sich in Tabelle VIII—X zusammengestellt. Sie stehen mit den bei der Prüfung des Pferdeserums erhobenen Befunden in der Hauptsache in Einklang.

---

1) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 61, 1908.

2) Das Serum ist von Herrn Dr. Herschel, Halle a. S., hergestellt und mir freundlichst überlassen worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIII a.

Tuberkuloseserum (Ziege). Agglutinationsprüfung.

Kultur	Serumverdünnung						Kontrolle
	50	100	200	400	800	1600	
Tub. Typ. humanus La.	+++	+++	++	++	+	∓	—
Tub. Typ. hum. Leu.	+++	+++	++	+	∓	—	—
Tub. Typ. bov. 9 g	+++	+++	++	+	∓	∓	—
Tub. Typ. bov. 6 g	+++	++	+	∓	—	—	—
Tub. Typ. bov. 18 g	—	—	—	—	—	—	—
Tub. Arloing-Courmont	∓	—	—	—	—	—	—
Gras	∓	∓	—	—	—	—	—
Mist	∓	∓	—	—	—	—	—
Korn I	+	∓	—	—	—	—	—
Korn II	++	+	∓	—	—	—	—

Tabelle VIII b.

Normales Ziegenserum. Agglutinationsprüfung.

Kultur	Serumverdünnung			
	50	100	200	400
La.	—	—	—	—
Leu.	—	—	—	—
9 g	—	—	—	—
6 g	—	—	—	—
18 g	—	—	—	—
Arl.-Courm.	∓	∓	—	—
Gras	—	—	—	—
Mist	—	—	—	—
Korn I	∓	—	—	—
Korn II	∓	--	—	—

Auch für das Ziegentuberkuloseserum läßt sich der spezifische Charakter der Agglutination nachweisen: Zwei Kulturen von Menschentuberkulose werden stark beeinflußt, bis zur Verdünnung 1:800 bezw. 1:1600, wogegen der Stamm Courmont und vier säurefeste Arten eine nur unvollkommene und nicht sehr weitgehende Agglutination zu erkennen geben. Höchstens bei dem Stamm Korn II ist eine etwas stärkere Reaktion zu konstatieren, doch bleibt sie hinter derjenigen der echten Tuberkelbacillen um ein beträchtliches zurück; auch wird dieser Stamm, im Gegensatz zu den Tuberkulosestämmen, schon durch normales Ziegenserum 1:50 agglutiniert. Sehr eigentümlich ist das Verhalten der drei Perlsuchtkulturen. Zwei von ihnen lassen sich agglutinatorisch von den Menschenstämmen nicht trennen, wie dies auch ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mittelst des Pferdeserums für einige andere Rinderstämme festgestellt wurde, wogegen der dritte Stamm selbst durch eine Serumkonzentration von 1:50 nicht agglutiniert wird, in dieser Hinsicht also noch den säurefesten Bakterien erheblich nachsteht. Es scheinen somit zwischen den verschiedenen Vertretern des Typus bovinus gewisse biologische Differenzen zu existieren. Wenigstens läßt sich nach der Herkunft und dem kulturellen Verhalten dieser 3 Stämme nicht gut daran zweifeln, daß es sich um echte Rinderstämme handelt. Lediglich die eine, nicht agglutinierbare Kultur zeigt auf festen Substraten ein etwas atypisches Wachstum; Untersuchungen hierüber sind im Gange.

Mit der Agglutinationswirkung stimmt die präzipitierende Fähigkeit des Serums im wesentlichen überein. Sie wurde an einem Menschenstamm, einer Courmont-Kultur und 4 säurefesten Bakterien, und zwar an den hieraus hergestellten Tuberkulinen geprüft. Schon R. Koch[1]) hatte darauf hingewiesen, daß ein hochwertiges agglutinierendes Tuberkuloseserum gleichzeitig die Eigenschaft besitzt, mit der keimfreien Kulturflüssigkeit von Tuberkulosekulturen einen spezifischen Niederschlag zu geben. Auch ich selbst konnte, wie erwähnt, anfänglich für das Pferdetuberkuloseserum eine präzipitierende Wirkung auf Tuberkulin und Tuberkulol konstatieren[2]). Bonome[3]) gibt an, daß es unter Umständen möglich sei, Menschen- und Rinderbacillen mittels der Präzipitation zu differenzieren. Streng spezifische Tuberkulosesera dieser Art wurden von Meerschweinchen gewonnen, wogegen Sera entsprechend vorbehandelter Kaninchen auf beide Typen gleichmäßig wirkten. Dammann und Stetefeder[4]) konnten diese Angaben nicht bestätigen. Neuerdings haben sich Calmette und Massol[5]) etwas eingehender mit ganz analogen Versuchen beschäftigt und von Rindern nach intravenöser Injektion von Rinderbacillen ein Serum erhalten, das hochgradig agglutinierend und präzipitierend wirkte. Nach

1) l. c.
2) l. c.
3) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 43, 1907.
4) Deutsche tierärztliche Wochenschr., 1909.
5) Compt. rend. de l'Acad., 1909, Bd. 149.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihren Beobachtungen reagieren die Tuberkuline von Rinder-, Menschen- und Vogelbacillen ganz gleichmäßig, während Fischbacillen und Thimotheebacillen eine weit schwächere Präzipitation ergeben. Bemerkenswert ist, daß diese Sera im Bordet-Gengouschen Versuch keine Spur von Komplementbindung zeigten. Aehnliche Resultate erhielt Jousset[1]), der von Kaninchen, Ziege und Esel präzipitierende Sera gewann. Eine präzipitierende Wirkung des Liq. cerebrospinalis bei tuberkulöser Meningitis stellte Vincent[2]) fest. Meine eigenen Versuche lassen, wie Tabelle IX zeigt, eine starke Präzipitinreaktion des Serums erkennen, die insofern streng spezifisch ist, als sie nur mit dem Menschentuberkulin in dieser vollkommenen Weise eintritt, mit den anderen, von mir geprüften Tuberkulinen dagegen innerhalb bescheidener Grenzen bleibt.

Tabelle IX.

Tuberkuloseserum (Ziege). Präzipitation.

Tuberkulin	Serumdosis 0,02					Kontrolle
	0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	
Typ. hum. La.	+++	+++	+++	++	∓	—
Courmont	++	+	∓	—	—	—
Korn I	++	—	—	—	—	—
Korn II	++	∓	—	—	—	—
Mist	∓	—	—	—	—	—
Gras	∓	—	—	—	—	—

In Anbetracht der ausgesprochenen Agglutinations- und Präzipitationskraft des Serums erscheint es recht auffällig, daß auch hier wieder, ebenso wie ursprünglich bei dem Pferdeserum, die Komplementbindung so gut wie vollkommen versagte (Tabelle X). Präzipitation und Komplementbindung stehen nach allem, was wir sonst wissen, in engstem Zusammenhang und sind vermutlich nur verschiedene Reaktionen auf den gleichen Vorgang. Der Umstand, daß das Tuberkuloseserum der Ziege trotz präzipitierender Wirkung der komplementbindenden Fähigkeit entbehrt, dürfte daher

1) Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 67, 1909.

2) Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 66, 1909, auch Vincent und Combe, ebendaselbst, Bd. 67, 1909.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle X.

Tuberkuloseserum (Ziege). Komplementbindung.

Serum	Tuberkulin	Resultat
0,01	0,05 L. (Typ. hum.)	fast gelöst
0,01	0,02	gelöst
0,01	0,01	dgl.
0,01	0,005	dgl.
0,01	0,001	dgl.
0,01	0,05 Courmont	gelöst
0,01	0,02	dgl.
0,01	0,01	dgl.
0,01	0,005	dgl.
0,01	0,001	dgl.
0,01	0,05 Korn I	fast gelöst
0,01	0,02	gelöst
0,01	0,01	dgl.
0,01	0,005	dgl.
0,01	0,001	dgl.

wohl die schon an früherer Stelle angedeutete Ansicht stützen, daß nicht der Mangel an komplementbindenden Antikörpern, vielmehr die Anwesenheit irgendwelcher Hemmungsstoffe den Eintritt der Reaktion verhindert [1]).

Zusammenfassung.

1) Die agglutinierende Wirkung eines vom Pferde gewonnenen hochwertigen Tuberkuloseserums erwies sich als spezifisch und gestattete eine biologische Differenzierung von Tuberkel- und säurefesten Bacillen.

2) Ebenso wie der zur Immunisierung verwendete Stamm von Menschentuberkulose wurden auch alle übrigen typischen Kulturen menschlicher Tuberkulose (im ganzen 34) ausnahmslos stark agglutiniert.

3) Die geprüften Stämme von Rindertuberkulose (3) zeigten, trotz der bestehenden kulturellen Differenzen im Agglutinationsversuch im wesentlichen das gleiche Verhalten, wie die Menschenstämme.

1) Zusatz bei der Korrektur: Diese Ansicht wird durch eine inzwischen erschienene Arbeit von Calmette und Massol (Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 68, No. 5, p. 224) bestätigt. Sie konnten zeigen, daß das präzipitierende Tuberkuloseserum tatsächlich Hemmungsstoffe enthält, welche das Auftreten des Komplementbindungsphänomens verhindern.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Alle übrigen Kulturen wurden durch das Tuberkuloseserum entweder garnicht oder in so unvollkommener und abweichender Weise beeinflußt, daß ihre Abgrenzung gegenüber den echten Tuberkelbacillen von Mensch und Rind unschwer gelang. Hierzu zählten außer den säurefesten saprophytischen Arten die Bacillen der Geflügel- und Blindschleichentuberkulose, vor allem aber auch die homogenisierten Tuberkulosestämme von Arloing-Courmont. Bezüglich der letzteren entspricht somit das Ergebnis der Agglutinationsprüfung ihrem atypischen kulturellen und pathogenen Verhalten.

5) Das Serum verfügte ferner über sehr ausgesprochene bakteriotrope Fähigkeiten. Die Wirkung trat indessen nur in stärkeren Konzentrationen zutage und äußerte sich gegenüber Tuberkelbacillen und säurefesten Stämmen ganz gleichmäßig.

6) Komplementbindende Antikörper waren anfänglich in dem Serum nicht nachweisbar. Erst nach längerer Aufbewahrung, als Agglutinationskraft und bakteriotrope Wirkung fast ganz geschwunden waren, fiel die Komplementbindungsreaktion positiv aus. Die wirksamen Stoffe sind noch nach 4 Jahren in dem Serum reichlich vorhanden. Die Reaktion konnte mit „Tuberkulin“ jeglicher Herkunft erhalten werden, d. h. Extrakte, die entsprechend der Herstellungsweise des Alttuberkulins aus den verschiedensten Kulturen, Tuberkelbacillen, wie säurefesten Arten, gewonnen worden waren, lenkten in Verbindung mit dem Serum Komplement ab.

7) Ein durch Immunisierung einer Ziege dargestelltes Tuberkuloseserum bestätigte im wesentlichen die mit dem Pferdeserum erhobenen Befunde. Hohe Agglutinations- und Präzipitationswirkung spezifischen Charakters waren nachweisbar, dagegen versagte die Komplementbindung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin und der Krankenstation des städtischen Obdachs.]

Beiträge zur Theorie und Praxis der Wassermannschen Reaktion.

Von **E. Seligmann** und **F. Pinkus**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Februar 1910.)

Allgemeiner Teil.

Eine befriedigende Erklärung vom Wesen der Wassermannschen Reaktion steht noch aus. Die Antigen-Antikörperhypothese hat in der von Wassermann ursprünglich aufgestellten Fassung versagt und auch in ihren Modifikationen sich nicht durchzusetzen vermocht. Sowohl gegen die Gedankengänge Citrons, das Antigen sei ein spezifisches Toxolecithid mit dem Lipoid als haptophorer Gruppe, wie auch gegen die Ueberlegungen von Weil und Braun, antigen wirkten aufgeschlossene Zellsubstanzen, die sich in den Reaktionskörpern des Syphilitikerserums ihre Antikörper erzeugt hätten, gegen beide Theorien sprechen mancherlei Bedenken. Die Annahme schließlich, daß die Komplementbindungsreaktion bei Syphilis keine Reaktion zwischen Antigen und Antikörper sei, sondern der Ausdruck eines bestimmten kolloidalen Reaktionsvorganges, ändert zwar unseren Gesichtspunkt, hat uns bisher aber auch noch nicht weitergeführt und wird uns nicht eher weiter führen, als bis unsere Kenntnisse über die Wesenheit der reagierenden Stoffe gewachsen sind. Das Gleiche gilt für jene Erklärungsversuche, die, wie die Hypothesen Manwarings und von Satta und Donati, fermentative komplementzerstörende Vorgänge annehmen, bei denen Extrakt bezw. Serumbestandteile die Rolle des Aktivators spielen. Aus allen diesen Gründen haben wir das reiche Material, das uns zu Gebote stand, neben seiner praktischen Verarbeitung auch dazu benutzt, den theoretischen Ausbau der Reaktion weiter zu fördern. Unsere Studien betrafen Eigenschaften

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

des sogenannten „Antigens“, der Reaktionskörper im Serum und der Reaktion selbst.

1. Antigen[1]). Unsere Fragestellung war: ist das in wässerigen Extrakten luetischer Organe vorhandene Antigen verschieden von dem in Alkohol löslichen und dem aus normalen Organen gewinnbaren Antigen? — Diese Frage wird immer wieder aufgeworfen, zumal von jenen, die behaupten, es handle sich bei der Komplementbindung um zwei nebeneinander verlaufende Reaktionen, eine für Syphilis spezifische mit wässerigen Extrakten und daneben eine unspezifische, nur charakteristische Reaktion mit alkohollöslichen Lipoiden. In der Tat spricht mancherlei für eine Differenz zwischen den wirksamen Substanzen in alkoholischen und wässerigen Extrakten.

Wir wollen absehen von der Behauptung, daß wässerige Extrakte stets stärker und zuverlässiger wirksam seien als alkoholische; denn wir können diese Angabe auf Grund eines ziemlich reichen Beobachtungsmateriales nicht für berechtigt halten. Auffällig aber ist folgendes: die wässerigen Extrakte sind nach den Untersuchungen von Wassermann, Neisser, Bruck und Schucht fähig, bei Versuchstieren komplementbindende Antikörper auszulösen, die alkoholischen Extrakte können dies jedoch nicht. In dieser Hinsicht müssen wir die Befunde von Schatiloff und Isabolinsky bestätigen. Weder an Kaninchen noch an Meerschweinchen gelang es uns, durch Vorbehandlung mit alkoholischen Extrakten eine einwandfreie Antikörperreaktion zu erzielen. Auch mit Lecithin, das als Ersatz für das Antigen vorgeschlagen war, gelingt nach Wassermann und Citron die Antikörpererzeugung nicht. Wir haben diese Versuche ebenfalls wiederholt und noch etwas erweitert, wir prüften die Sera der vorbehandelten Tiere nicht nur auf Ausflockungs- und Komplementbindungsvermögen, sondern auch auf etwaige Fähigkeit, zugesetztes Lecithin in erhöhtem Maße zu spalten. Die Titration ergab negative Resultate, ebenso wie die Präzipitation und Komplementbindung. Es gelingt also weder mit Lecithin noch mit alko-

1) Wir bezeichnen der Kürze halber die wirksame Substanz der Extrakte als Antigen, ohne damit ihren theoretischen Charakter kennzeichnen zu wollen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

holischen Extrakten aus normalen und syphilitischen Organen im Tierkörper künstlich Antikörper irgendwelcher Art zu erzeugen.

Spricht dies Verhalten unbedingt für die Nichtidentität des wässerigen und der alkoholgelösten Stoffe? — Es ist schwer, hierauf eine entscheidende Antwort zu geben; man könnte wohl sagen, daß reine Lipoide (in alkoholischer Lösung), die sich in vitro in mannigfacher Hinsicht anders verhalten als Lipoide in eiweißhaltigen Medien, auch in vivo anders wirkten, und man könnte sogar den Versuchen von Wassermann, Neisser, Bruck und Schucht entgegenhalten, daß sie bei ihren Versuchen vielleicht doch nur Eiweißpräzipitine nachgewiesen haben; die Methodik der Komplementbindung ist für den Eiweißantikörpernachweis bekanntlich viel empfindlicher als die Präzipitationsmethode. Die Autoren haben schon in ihrer ersten Arbeit diesen Einwand dadurch zu entkräften gesucht, daß sie die Reaktionslosigkeit des Serums vorbehandelter Tiere gegenüber normalen Organextrakten demonstrierten. Ihre Befunde haben aber heute doch etwas an Beweiskraft verloren, nachdem man auch in den wässerigen Extrakten vieler nicht syphilitischer Organe wirksame Substanzen hat nachweisen können. Folgende Möglichkeit liegt vor: Die Affensera zeigen nach einmaliger Vorbehandlung mit menschlichen syphilitischen Organen schwache Antikörperreaktion auf Eiweiß, die normalen Organextrakten gegenüber noch nicht deutlich ist, syphilitischen Extrakten mit ihrer Anhäufung von Lipoideiweiß gegenüber aber schon zur Komplementbindung führt.

An eine solche Möglichkeit ist immerhin zu denken. Es ist aber überhaupt fraglich, ob das Auftreten komplementbindender Stoffe nach der Vorbehandlung mit syphilitischem Material immer als Antikörperreaktion zu deuten ist. Bruck und Stern, die die Versuche an Affen in größerem Maßstabe wiederholten, weisen auf die Verschiedenheiten hin, die bei der Vorbehandlung mit abgetötetem (Extrakte) oder lebendem Material (Organbrei) zu beobachten sind, und kommen zu dem Schluß: „es ist also wahrscheinlich, daß wir durch Behandlung gesunder Affen mit lebendem Material nicht ‚immunisieren‘, sondern infizieren“. Ein Schluß, der heutzutage fast allgemein

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch für das Wesen der Reaktion beim syphilitischen Menschen gezogen worden ist[1]).

Nach alledem spricht der scheinbar verschiedene antigene Charakter wässeriger und alkoholischer Extrakte nicht unbedingt gegen die Identität der wirksamen Prinzipien.

Wir haben noch auf eine andere Weise uns Aufklärung hierüber zu schaffen gesucht: nach Wassermann und seinen Mitarbeitern sind die hemmenden Substanzen der wässerigen Extrakte hitzeunbeständig, sie werden durch Kochen zerstört. Dies Verhalten sehen die Autoren als äußerst wichtig an und als einen Beweis, daß die betreffenden Substanzen „spezifischer Natur sein müssen". Die alkoholischen Extrakte sind jedoch, wie schon Levaditi und Yamanouchi fanden und wir bestätigen können, kochbeständig, sowohl die aus normalen wie die aus luetischen Organen gewonnenen. Levaditi und Yamanouchi geben auch schon eine Erklärung dieses Verhaltens: im wässerigen Extrakt werden die wirksamen Substanzen mechanisch durch das koagulierende Eiweiß mitgerissen und so unwirksam; im alkoholischen Extrakte fehlen die Eiweißkörper, fehlt infolgedessen auch die Koagulation und das mechanische Moment des Niederreißens. Aehnliche Befunde, die Kyes und Sachs bezüglich des Kobragift aktivierenden Lecithins erhoben hatten, erfuhren von diesen Forschern eine etwas andere Deutung. Die beiden Autoren hatten gefunden, daß in hämoglobinhaltiger Lösung das Lecithin durch Erhitzen auf 62° seine Aktivierungsfähigkeit verliert, daß es aber in hämoglobinfreier Stromataaufschwemmung hitzebeständig ist. Da nun eine erhitzt gewesene Hämoglobinlösung imstande ist, bei kurzer Digestion mit Lecithin dessen aktivierende Fähigkeit aufzuheben, so folgern sie, daß erhitztes Eiweiß imstande ist, Lecithin an sich zu kuppeln und so unwirksam zu machen. In ähnlicher Weise könnte man auch das Verhalten der Extrakte erklären, zumal man ganz analoge Verhältnisse auch an anderen alkohollöslichen Sub-

1) Anmerkung bei der Korrektur: Neuerdings hat ferner Franz Blumenthal (Dermatol. Zeitschr., Bd. 17, Heft 1/2) darauf hingewiesen, daß Affen für Komplementbindungsversuche wenig geeignet seien, da auch das Serum normaler Affen nicht selten und scheinbar ohne Gesetzmäßigkeit die Komplementbindungsreaktion geben kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stanzen nachgewiesen hat (Pyocyanase: Russ und Raubitschek).

Die Frage, wie sich die wässerigen Extrakte aus normalen resp. nicht luetischen Organen der Hitze gegenüber verhalten, ist, soweit wir die Literatur übersehen können, bisher nicht geprüft worden, trotzdem nicht selten wirksame wässerige Extrakte aus normalen Organen dargestellt worden sind (es sei besonders auf die wässerigen Extrakte aus Meerschweinchenherzen hingewiesen, die Pick und Pribram benutzt haben; Extrakte, denen man den Einwand syphilitischer Provenienz nicht machen kann).

Durch die Freundlichkeit des Kollegen R. Ehrmann gelangten wir in den Besitz eines wässerigen Extraktes aus der Leber eines an akuter gelber Leberatrophie Verstorbenen. In diesem Falle wie in mehreren anderen war nach den Angaben von Ehrmann Lues mit Sicherheit auszuschließen, gleichwohl reagierten die Extrakte genau wie die aus syphilitischen Organen hergestellten. Diese Befunde, die Ehrmann in der Berliner medizinischen Gesellschaft schon mitteilte[1]), konnten wir an dem uns freundlichst überlassenen Extrakte bestätigen, als wir ihn an einer ganzen Reihe von normalen und syphilitischen Seris prüften. Die Prüfung des Extraktes auf Hitzebeständigkeit seiner wirksamen Bestandteile ergab nun folgendes: Der wässerige Extrakt aus diesem nicht syphilitischen Organe ist nicht kochbeständig; seine komplementbindende Fähigkeit wird ebenso wie die eines luetischen Extraktes durch Kochen zerstört. Damit ist erstens bewiesen, daß die Differenz der wässerigen und alkoholischen Extrakte bezüglich der Hitzeempfindlichkeit in der Tat nur durch die Art des Extraktionsmittels bedingt ist; ferner beweist dies Verhalten aber, daß die Hitzeunbeständigkeit wirksamer Substanzen keineswegs nur ein Charakteristikum spezifischer Antigene ist.

Genau entsprechend ist das Verhalten zu niederen Temperaturen, das bisher in der Literatur kaum gewürdigt worden ist. Temperaturen unter 0° berauben die

1) Inzwischen veröffentlicht in der Berlin. klin. Wochenschr., 1910, No. 7.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

wässerigen Extrakte ihrer wirksamen Substanzen und lassen die alkoholischen im allgemeinen unbeeinflußt[1]). Der wässerige Extrakt aus der atrophischen Leber folgt in seinem Verhalten durchaus den wässerigen luetischen Extrakten, mehrmaliges Einfrieren und Wiederauftauen genügt, ihn unwirksam zu machen.

Es galt nun zu entscheiden, ob die Deutung, die Sachs und Kyes, bezw. Levaditi und Yamanouchi ihren analogen Beobachtungen gegeben hatten, sich experimentell auch für das Verhalten der Extrakte stützen läßt. Das ist in unseren Versuchen nicht der Fall. Wir stellten uns die Verdünnung des alkoholischen Extraktes statt mit Kochsalzlösung mit verdünntem menschlichen Serum (1 : 10) her und erhitzten zum Sieden: der Extrakt verlor seine Wirksamkeit nicht. Vielleicht war die recht geringe Eiweißkoagulation daran schuld; wir mischten deshalb Alkoholextrakt und unverdünntes Serum zu gleichen Teilen, es trat grobflockige Gerinnung des Serums ein; die Mischung wurde jetzt zum Sieden erhitzt, mit Kochsalzlösung verdünnt und filtriert. Das Filtrat war unverändert wirksam geblieben. Das mechanische Moment des Mitreißens durch Koagulation kommt demnach nicht in Frage; ebensowenig aber das chemische der Eiweißbindung durch die Erhitzung.

Ueberblicken wir noch einmal die bisherigen Ueberlegungen und Resultate, so ergibt sich, daß die wirksamen wässerigen Extrakte aus syphilitischen und nicht syphilitischen Organen sich durchaus gleichartig verhalten; daß dagegen das physikalische und biologische Verhalten alkoholischer Extrakte gewisse Unterschiede aufweist, die wiederum übereinstimmen, gleichgültig, ob die Alkoholextraktion normale oder syphilitische Organe betroffen hat. Also wohl eine Differenz zwischen wässerigen

1) Soeben teilen Blanck und Friedemann (diese Zeitschrift, Bd. 4, 1909, Heft 1/2) Befunde mit, nach denen manche alkoholischen Extrakte durch längeren Aufenthalt im Eisschrank ihre Wirksamkeit vorübergehend verlieren sollen. Wir selbst haben eine ähnliche, auf die Kälte beziehbare Inaktivierung nie beobachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und alkoholischen Extrakten, aber keine wesentliche Differenz zwischen luetischen und nicht luetischen.

Dieser Befund spricht in mancher Beziehung gegen die Anschauung, die Wassermann 1908 entwickelt hat. Er sagte auf dem Kongreß in Budapest: „Ich bin der Meinung, daß es sich bei dem Antigen um eine Verbindung von Lipoiden mit ganz geringen Mengen den Eiweißkörpern nahestehender Substanzen handelt. Ich möchte es deshalb vorläufig doch noch unentschieden lassen, ob das Verhalten nicht etwa so ist, daß in einem Extrakte aus syphilitischen Organen neben den nicht spezifischen Lipoiden, wenn auch ganz geringe Mengen spezifischer, nur dem luetischen Organismus eigener Substanzen enthalten sind, die für die absolute Zuverlässigkeit der Reaktion doch eine ausschlaggebende Rolle spielen.“ Aus diesem Grunde sind normale Extrakte vorläufig nicht unbedingt anzuerkennen, „wohl aber halte ich es für erlaubt, statt des wässerigen Extraktes aus syphilitischen Organen einen alkoholischen Auszug als Antigen zu benutzen“.

Nach unseren Erhebungen sind alkoholische und wässerige Extrakte aus syphilitischen Organen in ihrem Verhalten mehr voneinander verschieden als wässerige Extrakte aus luetischen und bestimmten nicht luetischen Geweben. Der Gedanke an ein spezifisch syphilitisches Agens in luetischen Organextrakten erfährt durch unsere Befunde jedenfalls keine Stütze.

Daß in der Tat die Lipoide eine ganz wesentliche Bedeutung für die Wirksamkeit der Extrakte haben, geht aus zahlreichen Untersuchungen hervor. Auf die Erwähnung der Literatur, die durch die Mitteilung von Porges und Meier eingeleitet wurde, kann wohl verzichtet werden. Sehen wir uns im folgenden näher um, wie weit die chemischen Eigenschaften der Phosphatide herangezogen werden können, um das Verhalten der Organextrakte auch biologisch zu erklären.

Wir folgen bezüglich der chemischen Daten im wesentlichen der vorzüglichen Abhandlung von Erlandsen[1]), der durch seine umfassenden Untersuchungen Begriff und Eigenschaften der Phosphatide festlegte.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 51.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Begriff „Phosphatid“ umfaßt „alle komplexen organischen Verbindungen, welche das gemeinschaftliche Kennzeichen besitzen, daß sie Glyzerinphosphorsäure in (wahrscheinlich ätherartiger) Verbindung mit einem oder mehreren basischen Radikalen und einem oder mehreren Fettsäureradikalen enthalten“.

Nicht berücksichtigt ist in dieser Erklärung das verschiedene physikalische Verhalten und die verschiedene chemische Struktur der Phosphatide. „Phosphatid“ ist daher ein Substitut für die veraltete, noch von Hoppe-Seyler angewandte Benennung „Lecithin“; dies Wort gilt jetzt nur für eine bestimmte, näher charakterisierte Gruppe der Phosphatide. Und auch für diese scheint, nach den neueren Untersuchungen Mac Leans[1]), dies Wort nur einen Sammelbegriff zu bedeuten, da selbst Lecithine mit fast identischen Analysenwerten sich bei der Hydrolyse recht verschieden verhalten.

Die im Organismus vorhandenen Phosphatide sind meist in Aether löslich (ohne doch alle unmittelbar mit Aether extrahiert werden zu können); sie lassen sich mit Wasser „feuchten“ und bilden schließlich mit diesem eine Art kolloidaler Lösung.

Man kann die Phosphatide in zwei Hauptgruppen einteilen, die durch das Verhältnis N : P charakterisiert sind, nämlich in Monoamidophosphatide und Diamidophosphatide. Die ersteren lassen sich direkt mit Aether extrahieren, während die letzteren erst ätherlöslich werden, wenn Alkoholbehandlung vorangegangen ist. Sie sind deshalb „als auf eine andere und festere Art gebunden zu betrachten als die ersteren, die frei auftreten“ (Erlandsen). An einer anderen Stelle seiner Arbeit schreibt derselbe Autor: „Meine Untersuchungen bekräftigen indessen die schon von Hoppe-Seyler gehegte Vermutung, daß das „Lecithin“[2]) zum Teil erst nach einer Alkoholbehandlung extrahiert werden konnte, wahrscheinlich weil es an andere organische Stoffe in den Zellen gebunden war.“ Durch die Alkoholbehandlung tritt eine Koagulierung der Albuminstoffe ein, die Phosphatide werden frei.

1) Biochem. Journal, Bd. 4, 1909, p. 240.
2) Hier synonym mit Phosphatid.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der primäre Aetherextrakt eines Organes (Erlandsen hat speziell am Herzen gearbeitet) enthält sonach zwar bedeutende Mengen Phosphatide, diese haben jedoch eine völlig andere chemische Zusammensetzung als die durch Alkohol in Lösung gebrachten (das Säureradikal der letzteren hat den Charakter einer Oxyfettsäure, während das der ätherlöslichen Phosphatide einen weit geringeren Sauerstoffgehalt aufweist). Schon aus diesem Grunde ist ein sogenannter „wässeriger" Extrakt, den Fr. Lesser in letzter Zeit zur Komplementbindung empfohlen hat, mit besonderer Vorsicht zu verwerten, da es sich um einen durch primäre Aetherextraktion gewonnenen, also von den sonst verwandten Extrakten auch chemisch verschiedenen Herzextrakt handelt.

Betrachten wir jetzt noch einmal die Art der zur Komplementbindung verwandten Extrakte, so erkennen wir, daß in den durch Alkoholbehandlung gewonnenen hauptsächlich Diamidophosphatide vorhanden sein müssen, also Phosphatide, die nicht frei im Organismus vorkommen, sondern wahrscheinlich in Eiweißkuppelung. Diese Eiweißbindung wird durch die Alkoholbehandlung gesprengt, die eiweißfreien Phosphatide gehen in Lösung. Daß dem in der Tat so ist, geht aus den Befunden von Marie und Levaditi sowie Weil und Braun hervor, die feststellten, daß die wirksame Substanz primär unlöslich in Aether resp. in Petroläther ist; es kann sich demnach bei den wirksamen Stoffen der luetischen Organe nicht um Monoamidophosphatide handeln.

Wir haben weiter gesehen, daß die Phosphatide mit Wasser kolloidale Lösungen bilden können, und hieraus läßt sich die Wirksamkeit wässeriger Extrakte ableiten. Nun ist es eine bekannte Tatsache, daß im allgemeinen normale Organe keine brauchbaren wässerigen Extrakte geben, während macerierte luetische Organe in der Regel ein sehr günstiges Ausgangsmaterial darstellen. Wahrscheinlich liegt dies daran, daß durch den Krankheitsprozeß die in den Zellen vorhandenen Eiweißlipoide frei gemacht, vielleicht auch vermehrt werden. Eine spezifische Wirkung des Syphiliserregers ist hierfür nicht anzunehmen; denn gerade aus kranken Organen nichtluetischer Art (akute gelbe Leberatrophie, Tumoren, Struma)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lassen sich wirksame wässerige Extrakte gewinnen, ebenso aus gesunden Organen, die man der Autolyse oder bestimmter chemischer Behandlung unterwirft. So haben Bruck und Stern wirksame Extrakte gewonnen durch mehrtägige Extraktion mit Karbolkochsalzlösung oder durch 24-stündige Behandlung mit verdünnter Kalilauge (1:1000—1:5000); der Schluß, den die beiden Autoren hieraus ziehen, besagt: das Antigen darf nicht als Spirochätenprodukt angesehen werden, sondern „als eine körpereigene Substanz, die durch die Luesinfektion eine starke Steigerung erfährt"; wir möchten hinzufügen „bezw. eine andere Verteilung im Organe erleidet".

Wir folgern also aus den vorliegenden chemischen und biologischen Daten, daß die wirksame Substanz aller Extrakte im wesentlichen zur Klasse der Diamidophosphatide gehört, daß diese Substanz in den wässerigen Extrakten als Lipoideiweißverbindung [1]), in den alkoholischen als reines Lipoid vorhanden ist. Wir nehmen ferner an, daß wirksame wässerige Extrakte sich nur aus solchen (luetischen und anderen) Organen gewinnen lassen, in denen die Eiweißlipoide durch Zellaufschließung irgendwelcher Art frei geworden sind; daß dagegen die Alkoholbehandlung die Zellaufschließung selbst besorgt und so, unter Abspaltung der Eiweißkomponente, aus geeigneten Organen stets brauchbare Extrakte zeitigt.

Die Eiweißlipoide sind empfindlich gegen Hitze; es tritt eine Beeinflussung der Eiweißkomponente durch die Hitze ein, die möglicherweise, entsprechend den Befunden von Kyes und Sachs, zu einer weiteren Festigung der Bindung Eiweißlipoid führt; die wässerigen Extrakte werden daher durch Erhitzen unwirksam. Andererseits sind die freien Lipoide kochbeständig; es genügt auch die bloße Gegenwart von koagulablem Eiweiß bei der Erhitzung nicht, sie mechanisch oder chemisch in ihrer Aktivität zu beeinflussen. Die alkoholischen Extrakte sind daher kochbeständig. Auf diese Weise lassen sich demnach die

1) Der Gedanke, daß das Antigen eine Lipoideiweißverbindung sei, ist ja auch von Wassermann schon ausgesprochen worden (s. o.).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Differenzen im Verhalten wässeriger und alkoholischer Extrakte ungezwungen erklären.

Ist so auch die Möglichkeit einer chemischen Charakterisierung des „Antigens" gegeben, so ist damit über die Art der im Luesserum vorhandenen Reaktionskörper noch nichts präjudiziert. Selbst die Antikörperhypothese ist nicht etwa deshalb a limine von der Hand zu weisen, weil es bisher nicht gelungen ist, mit reinen Phosphatiden experimentell Antikörper zu erzeugen. Nur so viel läßt sich folgern, daß der Charakter der „Reagine" (Citron) als Luesantikörper bisher keinerlei stützende Grundlage besitzt. Ueber das Wesen dieser Reagine aber wissen wir zur Zeit nichts Greifbares.

2. Einige weitere Untersuchungen betrafen deshalb den Reaktionskörper des syphilitischen Serums. Angeregt wurden diese Versuche auch durch Beobachtungen, die wir bei der praktischen Verwendung aktiver Sera machten. Wir fanden nämlich, wie auch andere Untersucher vor uns, einen erhöhten Prozentsatz positiver Befunde bei Syphilitischen, aber auch das Vorkommen positiver Reaktionen bei Normalen. Für praktiscbe Zwecke ist daher die Verwendung aktiver Sera nicht zu empfehlen; theoretisch deutet dies Verhalten darauf hin, daß die Reaktionskörper des luetischen Serums durch die Inaktivierungstemperatur eine Abschwächung erleiden und daß normale Sera eine, wenn auch geringere Menge ähnlicher komplementbindender Stoffe enthalten wie syphilitische Sera; daß durch die Inaktivierungstemperatur diese geringen Mengen so weit abgeschwächt werden, daß sie im allgemeinen bei der Verwendung inaktivierter Sera praktisch nicht mehr in Betracht kommen.

Daß die komplementbindenden Stoffe durch höhere Temperaturen (62°) vernichtet werden, ist schon durch H. Sachs angegeben worden. Wir können zeigen, daß auch die längere Einwirkungsdauer der gewöhnlichen Inaktivierungstemperatur (56°) imstande ist, die Reaktionskörper bis zur fast völligen Vernichtung abzuschwächen. Schon 2—3-stündiges Erhitzen auf 56° genügt, die Wirksamkeit des Serums beträchtlich herabzusetzen, längeres Erhitzen führt zu völliger Aufhebung der Reaktionsfähigkeit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beispiel (11. VIII. 08).

Komplement	Extrakt	gewöhnl. inaktiv. Serum	Resultat	Extrakt	3 Stund. inaktiv. Serum	Resultat	Extrakt	6 Stund. inaktiv. Serum	Resultat	
0,1	0,2	0,4	ungelöst	0,2	0,4	ungelöst	0,2	0,4	komplett	Zu allen Röhrchen n. 1 Std. sensibil. Blutkörperchen (3-fach lösende Ambozeptordosis)
0,1	0,2	0,2	„	0,2	0,2	„	0,2	0,2	„	
0,1	0,2	0,1	„	0,2	0,1	komplett	0,2	0,1	„	
0,1	0,2	0,05	„	0,2	0,05	„	0,2	0,05	„	
0,1	0,2	0,025	komplett	0,2	0,025	„	0,2	0,025	„	
0,1	0	0,4	„	0	0,4	„	0	0,4	„	
0,1	0,4	0	„	—	—	—	—	—	—	

Die Inaktivierungstemperatur vermag aber nicht nur die „Reagine“ zu beeinflussen, sondern ist auch imstande, die Eigenhemmung mancher aktiver Sera zu mindern, und zwar schon innerhalb der üblichen Einwirkungsdauer (1/2 Stunde). Wir haben im Anfang unserer Untersuchungen jedes Serum im aktiven und inaktiven Zustande nebeneinander untersucht und dann gar nicht selten gefunden, daß ein Serum, das inaktiviert einwandfreie Resultate ergab, im aktiven Zustande praktisch nicht verwendbar war, weil es in den angewandten Mengen (0,2—01 ccm) allein die Hämolyse hemmte. Durch die Inaktivierung wurde diese Eigenhemmung sehr häufig so herabgemindert, daß wir praktisch zu diagnostischen Schlüssen kommen konnten. Diese Beobachtung erscheint recht auffällig; sollte man doch annehmen, daß aktive Sera allein eher die Hämolyse beschleunigen würden, schon infolge ihres, wenn auch schwankenden Komplementgehaltes; ferner konnte der eine von uns (S.) vor einiger Zeit mitteilen, daß die Inaktivierungstemperatur beim Meerschweinchenserum zum Auftreten von Hämolysehemmungskörpern führt; ein weiterer Grund, der a priori für die mindere Hemmungskraft aktiver Sera zu sprechen schien.

Jedenfalls aber besteht die Tatsache, daß manche Sera durch Inaktivieren in ihrer Eigenhemmung geschwächt werden; es besteht daneben die Tatsache, daß syphilitische Sera in ihren charakteristischen komplementbindenden Eigenschaften durch forciertes Inaktivieren ebenfalls geschwächt werden. Wir wollen aus diesem Parallelismus noch keine kausalen Schlüsse ziehen, möchten jedoch an dieser Stelle auf die Be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

obachtungen von Pick und Pribram hinweisen, die fanden, daß durch Aetherbehandlung syphilitische Sera, und nur diese, erhebliche Eigenhemmung erwerben. Auch hier also ein gewisser Zusammenhang zwischen Reaktionsvermögen (im Sinne der Syphilis) und Eigenhemmung des Serums.

Niedrige Temperaturen scheinen die „Reagine" des syphilitischen Serums nicht erheblich zu schädigen; wenigstens erwiesen sich mehrere Stunden eingefroren gewesene Sera so wirksam wie vor der Abkühlung.

Die Filtration des Serums durch Berkefeldkerzen ergab nur einen geringen Verlust an wirksamen Substanzen.

Beispiel (10. VIII. 08).

Extrakt	unfiltriertes Serum	filtriertes Serum		
0,2	0,1	0	hämolytisches System und Komplement (wie oben)	ungelöst
0,2	0,05	0		„
0,2	0,025	0		große Kuppe
0,2	0,01	0		komplett
0,2	0	0,1		ungelöst
0,2	0	0,05		fast ungelöst
0,2	0	0,025		komplett
0,2	0	0,01		„
0	0,2	0		komplett
0	0	0,2		„

3. Schließlich haben wir den Reaktionsvorgang der Komplementbindung selbst in mannigfacher Weise variiert, um so einen Einblick in den Mechanismus der Reaktion zu erhalten. Die Ausführung dieser Versuche liegt schon längere Zeit zurück, wir wollten sie erst im Rahmen der größeren Arbeit öffentlich mitteilen; einige Ergebnisse sind inzwischen auch von anderer Seite [Satta und Donati[1])] erhoben und veröffentlicht worden; wir gehen deshalb auf diese Dinge nur ganz kurz ein, soweit sie mit den Beobachtungen der genannten Forscher übereinstimmen; nur unsere abweichenden und die anders gearteten Experimente werden wir etwas eingehender besprechen.

Die ursprüngliche und wohl auch immer befolgte Anweisung Wassermanns lautete: nach der Mischung von

1) Archivio per le Scienze mediche, Vol. 23, No. 11.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Extrakt, Serum und Komplement kommt das Gemisch auf 1 Stunde in den Brutschrank, damit in dieser Zeit die Bindung vor sich gehen kann. Die Notwendigkeit dieser Vorschrift haben wir geprüft; einmal, indem wir festzustellen suchten, wieviel Zeit zur Bindung des Komplementes erforderlich ist; sodann, indem wir die Aufbewahrungstemperatur variierten. Beides haben auch Satta und Donati geprüft; bezüglich der Temperatur kommen wir zu gleichen Schlüssen: ein Aufenthalt bei 37° ist nicht erforderlich, die Reaktion verläuft vielmehr auch bei Zimmertemperatur und selbst bei der Temperatur des schmelzenden Eises (0°) lassen sich im praktischen Versuche keine Unterschiede feststellen. Die italienischen Forscher erzielten sogar bei —10° noch einwandfreie Komplementbindung innerhalb einer Stunde. Sie beobachteten jedoch eine quantitative Differenz: bei 0° beispielsweise waren zur völligen Verankerung des Komplementes 45 Minuten erforderlich, bei 16° nur 20 Minuten. Wir selbst haben Sera untersucht, bei denen auch bei 0° das Komplement sehr schnell absorbiert wurde. Ein prinzipieller Unterschied zwischen der Komplementbindung bei 0° und bei 16° besteht jedenfalls nicht, und zwischen den Temperaturen von 16° und 37° besteht überhaupt kein merkbarer Unterschied. Die Bruttemperatur von 37° ist demnach für die Bindung des Komplementes nicht erforderlich. Daß der „Bordetsche Antikörper" auch in anderen Systemen bei 0° Komplement binden kann, haben schon Neufeld und Haendel nachgewiesen. Für sie ist dies Verhalten ein Grund, an der Ambozeptornatur dieses Antikörpers zu zweifeln.

Wir prüften sodann die Zeit, die bis zum Verschwinden des Komplements im positiven Versuche notwendig ist, und stießen hierbei auf ganz verschiedene Werte; wir fanden beispielsweise: 0, 5, 20, 40 Minuten bei verschiedenen Seris, d. h. bei einigen Seris konnte man zum Extrakt-Serum-Komplementgemisch gleichzeitig das hämolytische System hinzusetzen und erhielt vollkommene Hemmung der Hämolyse, während man bei anderen einige Zeit, bis zu 40 Minuten warten mußte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beispiele.

Erfolg bei Serum	Der Zusatz des hämolytischen Systems erfolgte					
	gleichzeitig	nach 5 Min.	nach 10 Min.	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 40 Min.
1	komplett	komplett	komplett	komplett	fast ungelöst	ungelöst
2	„	„	„	„	Kuppe	„
3	Kuppe	ungelöst	ungelöst	—	—	—
4	ungelöst	„	„	—	—	—
5	komplett	komplett	Kuppe	ungelöst	—	—
6	ungelöst	ungelöst	—	—	—	—

Der quantitative Gehalt der Sera an wirksamen Substanzen spielt augenscheinlich die bestimmende Rolle für die Schnelligkeit der Komplementabsorption; wir beobachteten jedenfalls, daß besonders stark reagierende Sera in der Regel auch besonders schnell zur Komplementbindung führten.

Wir haben ferner, in ähnlicher Versuchsanordnung wie Satta und Donati, die Mischungszeiten der verschiedenen Reagentien variiert und, ebenso wie diese Forscher, keine wesentlichen Unterschiede feststellen können. Im besonderen ist es gleichgültig — und dies ist für die Deutung des Reaktionsmechanismus nicht ohne Interesse — ob der Komplementzusatz gleichzeitig mit der Mischung von Extrakt und Serum erfolgt oder erst ein bis zwei Stunden später vorgenommen wird. Dagegen wird, entsprechend den Angaben Manwarings, hämolytischer Ambozeptor teilweise verbraucht, wenn er schon während der Bindungsreaktion zwischen Extrakt, Serum und Komplement gegenwärtig ist. Der Verbrauch ist kein vollständiger, die Schädigung ist vielmehr nur eine teilweise und scheint wiederum von der Energie des Reaktionsvorganges abhängig zu sein.

Beispiel.

1) Dem Gemisch vom Extrakt, syphilitischem Serum und Komplement wurden nach 1 Stunde Blutkörperchen und Ambozeptor zugesetzt.

2) Dem gleichen Gemisch werden nach 1 Stunde Blutkörperchen, Ambozeptor und nochmals Komplement zugesetzt.

3) Dem gleichen Gemisch wird sofort Ambozeptor zugesetzt, nach 1 Stunde Blutkörperchen und nochmals Komplement.

Resultat: 1 ungelöst, 2 komplett, 3 Kuppe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieselbe Ambozeptormenge also, die beim 2. Röhrchen ausreicht, um mit Hilfe von frischem Komplement die zugesetzten Blutkörperchen vollständig aufzulösen, genügt nicht, wenn sie schon während des Komplementbindungsvorganges zugegen war. Die Lösung ist keine vollständige mehr (Kuppe, Röhrchen 3). Der teilweise Verbrauch von Ambozeptor scheint jedoch nur für den Immunambozeptor zu gelten; denn sonst wäre es unverständlich, wie die Bauersche Modifikation überhaupt brauchbar sein kann. Verwendet sie doch den natürlichen hämolytischen Ambozeptor des zu untersuchenden menschlichen Serums, und der ist bei der Reaktion scheinbar unbeschadet gegenwärtig.

Daß konzentrierte Kochsalzlösung die Bindung von Komplement im Ambozeptorbindungsversuch behindern kann, ist eine schon von Ehrlich und Sachs gefundene Tatsache. Wenn es gelänge, den Mechanismus der Wassermannschen Reaktion ebenfalls durch Kochsalz zu stören, so wäre damit ein Wahrscheinlichkeitsschluß auf den Charakter der Reaktion als Antigen-Antikörperreaktion möglich.

Beispiel.

	Blut, Ambozeptor	Komplement	Kochsalz (20 Proz.)	Extrakt	Serum	Resultat
1	Nach 1-stünd.	0,1	0	0	0	komplett
2	Aufenthalt	0,1	0,2	0	0	„
3	bei 37° je	0,1	0	0,2	syph. Serum 0,2	ungelöst
4	1 ccm Blut	0,1	0	0,2	norm. „ 0,2	komplett
5	+ 0,001 ccm	0,1	0	0	syph. „ 0,4	„
6	Ambozeptor	0,1	0	0	norm. „ 0,4	„
7	(dreifach lö-	0,1	0,2	0,2	syph. „ 0,2	ungelöst
8	sende Dosis)	0,1	0,2	0,2	norm. „ 0,2	komplett

Vor dem Zusatz des hämolytischen Systems wird das Kochsalz in den Röhrchen 2, 7 und 8 durch 3 ccm Aqua destillata verdünnt; die übrigen Röhrchen enthalten je 3 ccm physiologische NaCl-Lösung als Verdünnungszusatz.

Der Versuch zeigt, daß die Bindung des Komplements durch den Kochsalzgehalt der Mischung nicht gehindert wird (7. Röhrchen). Daß das Kochsalz in der angewandten Konzentration an sich noch nicht antikomplementär wirkt, zeigen Röhrchen 2 und 8. Höher darf man jedoch mit den Kochsalz-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konzentrationen nicht gehen, sonst wird, wie weitere Versuche lehrten, die Hämolyse gehemmt.

Ferner sei bemerkt, daß das zum Versuch benutzte syphilitische Serum ein solches war, dessen Bindungszeit (s. oben) etwa 25 Minuten betrug. Der Einwand, daß die Bindung des Komplementes noch nach der Verdünnung des Kochsalzes eingetreten sei, ist daher nicht erhebbar. Für die Natur der Wassermannschen Reaktion als Antigen-Ambozeptorbindungsvorgang sprechen die mitgeteilten Versuche demnach nicht.

Ueber das eigentliche Wesen der Reaktion aber schon weitere Schlüsse zu ziehen, liegt uns fern; unser Bestreben war nur, neues Material beizubringen. Wir wenden uns nunmehr zu unseren praktischen Erfahrungen.

Spezieller Teil.

Im ganzen kamen etwa 500 Sera zur Untersuchung, die fast sämtlich der Krankenstation des städtischen Asyls für Obdachlose entstammten. Ueber das klinische und anamnestische Verhalten der serumliefernden Patienten werden wir weiter unten berichten. Vorerst wollen wir die Erfahrungen mitteilen, die wir bei Anwendung der früher von Seligmann vorgeschlagenen Untersuchungsmethode gesammelt haben. Die Methode stellt gegenüber der ursprünglichen Wassermannschen Vorschrift nur die Modifikation dar, daß statt eines Extraktes gleichzeitig mehrere verwandt werden; die Diagnose „Lues“ wird nur abgegeben, wenn sämtliche Extrakte mit dem zu untersuchenden Serum vollkommene Hemmung ergeben haben. Dadurch schalten wir die Möglichkeit von Fehldiagnosen in großem Maße aus; andererseits lag der Verdacht nicht fern, daß auch eine Reihe von wirklich luetischen Seris auf diese Weise nicht als syphilitisch diagnostiziert würde. Für die Untersuchungen von Leichenmaterial[1]) und solche Sera, die von zweifelhaften Fällen der inneren Klinik stammten[2]), hat sich dieser Verdacht nicht bestätigt; unsere Untersuchungen haben vielmehr seit An-

1) Seligmann und Blume, Berliner klin. Wochenschr., 1909.
2) Nach Erfahrungen mit F. Klopstock u. a.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wendung der Methode an Sicherheit und Uebereinstimmung mit dem klinischen und anatomischen Befunde nur gewonnen. Anders konnte die Frage allerdings liegen, wenn es sich um unkomplizierte Lues in ihren verschiedenen Stadien handelte. Hier lag bei sonst gesunden Menschen die Gefahr unspezifischer Reaktionen ziemlich fern, andererseits war die Möglichkeit gegeben, daß in den Anfangsstadien der Krankheit oder kurz nach Beendigung der Behandlung oder nach langdauernder Behandlungszeit einzelne Extrakte noch positiv reagierten, während andere die Hämolyse nicht mehr hemmten. Das uns zur Verfügung stehende Material bot erwünschte Gelegenheit, dieser Frage nachzugehen.

Unter unseren Fällen befanden sich 30 Fälle im Frühstadium, d. h. innerhalb der Zeit nach der Infektion bis vor Ausbruch des Exanthems.

Von diesen reagierten:

positiv mit allen Extrakten	15 = 50	Proz.
„ „ einigen „	10 = 33	„
negativ	5 = 17	„

Kurz nach der Kur wurden untersucht: 32.

Davon reagierten:

positiv mit allen Extrakten	20 = 62,5	Proz.
„ „ einigen „	4 = 12,5	„
negativ	8 = 25	„

Alte Lues ohne Erscheinungen, behandelt: 100.

Davon reagierten:

positiv mit allen Extrakten	62 = 62	Proz.
„ „ einigen „	9 = 9	„
negativ	29 = 29	„

Die Prüfung wurde so vorgenommen, daß jeder von uns im allgemeinen mehrere Extrakte zur Reaktionsausführung benutzte, jeder von uns die Untersuchungen für sich mit Reagentien verschiedener Herkunft ausführte, und erst durch nachträglichen Vergleich das Resultat festgestellt wurde. Hatte auch nur einer der angewandten Extrakte eine sicher positive Reaktion gegeben, so kam das betreffende Serum in die obige Rubrik 2 (positiv mit einigen Extrakten). Nach unseren früheren Erfahrungen ist positiver Ausfall eines Extraktes zwar nie als zweifelsfrei anzusehen, gleichwohl scheint das relativ häufige und vielleicht charakteristische Vorkommen einer derartigen „Teilreaktion“ in den mitgeteilten Zahlen von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bedeutung. Es hat den Anschein, als ob im Initialstadium der Krankheit die Bildung der reagierenden Stoffe allmählich erfolgt, und daß man ein verschiedenes diagnostisches Resultat erhält, je nachdem, in welchem Stadium der Hemmungskörperproduktion man untersucht. In der Tat konnten wir zwei Fälle etwas genauer untersuchen und uns folgendes Bild konstruieren:

A. 1. Untersuchung (kurz nach dem Primäraffekt): negativ.
2. Untersuchung desselben Patienten (2 Wochen später): positiv mit einigen Extrakten.
3. Untersuchung desselben Patienten (Eruption des Exanthems): positiv mit allen Extrakten.

B. 1. Untersuchung (2 Wochen nach der Infektion): negativ.
2. Untersuchung desselben Patienten (4 Wochen nach der Infektion): positiv mit einigen Extrakten.
3. Untersuchung desselben Patienten (6 Wochen nach der Infektion, Exanthem): positiv mit allen Extrakten.

Es muß demnach im Frühstadium der Syphilis einen Zustand des Serums geben, in dem dasselbe wohl mit dem einen oder dem anderen der Extrakte schon Hemmungsreaktionen ergibt, noch nicht aber mit allen Extrakten. Es liegt hierbei sicherlich nicht an der relativen Güte der Extrakte; denn die gleichen Extrakte sind es durchaus nicht immer, die bevorzugt werden [1]).

Ein ähnlicher Serumzustand scheint auch in nicht seltenen Fällen nach Beendigung der Kur einzutreten. Auch hier finden wir Sera, die eine verminderte Reaktionsfähigkeit haben, indem sie nur noch mit einigen Extrakten positiv reagieren. Leider konnten wir die betreffenden Patienten nicht weiter beobachten und so nicht feststellen, ob diese „Teilreaktion" eine weitere Abschwächung bis auf 0 erfährt oder nach einiger Zeit wieder zur völlig positiven Reaktion wird. Die Möglichkeit, daß die unvollkommene Reaktionsfähigkeit des Serums längere Zeit bestehen bleiben kann, ist aber auch dadurch angedeutet, daß unter den Fällen der 3. Gruppe (Lues latens)

1) Anmerkung bei der Korrektur: Das gleiche Verhalten zeigen, wie wir auf Grund neuerer Erfahrungen mitteilen können, die Sera syphilitischer Neugeborener. Auch hier ist ein Ansteigen der Hemmungskörper in den ersten Wochen nach der Geburt zu beobachten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich 9 Proz. befinden, die ebenfalls diese „Teilreaktion“ zeigen.

Sonst haben wir bei der Gesamtheit unserer Untersuchungen die „Teilreaktion“ noch dreimal beobachtet, wir lassen die Fälle folgen:

408	Psoriasis, keine Luesanamnese	von 5	Extrakten	2	positiv
476	Ikterus, „ „	„ 5	„	2	„
569	Puella seit 12 Jahren; keine Luesanamnese	„ 5	„	3	„

Von diesen Fällen zeigen 408 und 476 keinerlei Anhaltspunkte für Lues, 569 kann man, auch nach dem Ergebnis der unten folgenden Puellenuntersuchung, mit größter Wahrscheinlichkeit als „latente Lues“ ansprechen. Der Gedanke liegt nicht fern, daß in dieser Latenzperiode ein allmähliches Wiederansteigen des Prozesses stattfindet, der schließlich bis zu akuten Erscheinungen und dem Auftreten voll positiver Reaktion führt.

Die Fälle 408 und 476 (keine Puellen) ebenso zu deuten, wäre gezwungen; wir sind vielmehr geneigt, sie entsprechend unserem früheren Vorschlage als nicht syphilitisch zu bezeichnen.

Es hat sich somit in der Tat ergeben, daß in den Frühstadien der Syphilis und in den Stadien, die der Behandlung folgen, solche „Teilreaktionen“ auftreten können, die wir nach unserem bisherigen Modus als negativ bezeichnet hätten. Ferner scheint dies Vorkommnis, wenn auch nicht sehr häufig, in Fällen latenter Lues zur Beobachtung zu kommen. Unsere Modifikation leistet hier also nicht das Höchstmögliche. Nun ist aber zu bedenken, daß diese Modifikation ihre Entstehung den praktischen Anforderungen eines Untersuchungsamtes verdankt, und daß es sich hier fast ausschließlich um die Entscheidung handelt: liegt Infektion bezw. syphilitische Erkrankung vor oder nicht? — Die Diagnose der Infektion vor Auftreten der Sekundärerscheinungen wird nach dem oben Mitgeteilten häufig verschieden ausfallen; der mindere Prozentsatz an positiven Fällen in dieser Zeit ist praktisch ohne große Bedeutung, zumal eine Wiederholung der Reaktion nach einigen Wochen sichere Resultate ergeben wird. Außerdem aber steht ein großer Teil der Aerzte heute auf dem Stand-

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

punkte, mit der Behandlung bis zum Ausbruch des Exanthems zu warten, gleichgültig ob die Serumreaktion positiv oder negativ ausfällt. — Das Verhalten nach der Kur spielt für die diagnostische Tätigkeit einer Untersuchungsstelle auch keine große Rolle, kann jedoch durch eine kurze, dahingehende Mitteilung vermöge unserer Methode einer exakteren Prüfung unterzogen werden. Wichtiger sind vielleicht die Fälle latenter Lues mit zweifelhaftem Serumbefund, die aber selten zu sein scheinen.

Für die Tätigkeit einer öffentlichen Untersuchungsstelle, die ihr Material oft ohne jede weitere Angabe zur Untersuchung erhält, ist jedenfalls ein Modus vorzuziehen, der sicherlich keinen falschen Bescheid im positiven Sinne zuläßt, selbst wenn der Prozentsatz der richtig erkannten syphilitischen Sera ein etwas geringerer sein sollte. Wir werden deshalb auch weiterhin im allgemeindiagnostischen Betriebe eine Reaktion nur dann als positiv bezeichnen, wenn sie mit allen geprüften Extrakten zustande kommt.

Für die genaue Kontrolle eines Syphilitischen dagegen in allen seinen Stadien und für den quantitativen Verfolg seiner Serumfunktionen bietet unsere Methode ein neues und wichtiges Hilfsmittel, das beim Zusammenwirken vom behandelnden Arzte und der Untersuchungsstelle sich als recht wertvoll erweisen kann. Jedenfalls ist diese nur unwesentlich modifizierte Methode der Wassermannschen Reaktion ebenso wie die ursprüngliche Reaktion selbst einigen anderen Modifikationen, speziell denen von Stern und Bauer vorzuziehen; das ergaben einige Vergleichsversuche:

In 13 Fällen wurde neben der Wassermannschen Reaktion die Methode von Bauer (Fortlassen des Hammelblutkaninchenserums und Benutzung des aktiven Serums) ausgeführt, mit dem Ergebnis, daß 11mal die Meinung der Resultate (4mal W+, 7mal W—), während 2mal mit Bauers Modifikation das Serum Ueberstarke Eigenhemmung aufwies, so daß die Untersuchung unbrauchbar war (dabei einmal W+, einmal W—). In 44 Fällen wurde neben der Wassermannschen Reaktion die Methode von Stern (Fortlassen des frischen Meerschweinchenserums und Benutzung des aktiven Serums) ausgeführt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hierbei machte 17mal der Komplementmangel die Untersuchung nach Stern unmöglich (dabei 14mal W +, 3mal W —); im Gegensatz hierzu fanden wir 4mal die Untersuchung nach Wassermann unmöglich wegen zu starker Eigenhemmung des inaktivierten Serums, während das aktive Serum nach Stern eine klare Reaktion (3mal +, 1mal —) ergab. Unter den übrigen Fällen erhielten wir

17mal W + und Stern +,
1mal W + und Stern —,
5mal W — und Stern +.

Diese Vermehrung der positiven Resultate dürfen wir nicht mit ungeteilter Freude begrüßen als eine Verbesserung der positiven Reaktionszahl. Denn nichts ist unsicherer, als sich auf das Reaktionsergebnis aktiven Serums zu verlassen.

Wir haben in 104 Fällen nebeneinander das aktive und das inaktivierte Serum nach Wassermann untersucht und fanden nur 84mal Uebereinstimmung beider (69mal W +, 15mal W —). 20mal bestanden Unterschiede, und zwar ergab das aktive Serum unter diesen 19mal W +, wo das vorschriftsmäßig behandelte, inaktivierte Serum W — ergab. Allerdings hatten die meisten dieser Kranken Lues gehabt oder waren in deren Eruptionsstadium:

2mal Primäraffekt, vor dem Exanthem;
2mal sehr alte, nur mit 1 und 2 Kuren behandelte Lues;
1mal Leucoderma colli;
5mal alte, gut behandelte Lues (3 und mehr Kuren);
1mal 46-jährige Puella publica, die seit 23 Jahren der Kontrolle unterstand;
1mal 25-jährige Puella publica, 3 1/2 Jahr Kontrolle;
1mal 23-jährige Puella publica, 1/2 Jahr Kontrolle;
1mal 18-jähriges Mädchen mit unsicherem Exanthem;
1mal Plazentarser[illegible]mnese.

Alles in allem also syphilitische oder [illegible] Syphilis sehr verdächtige Fälle, aber meist von der Art, wie [illegible]onst oft negative Reaktionen zeigen. Rechnen wir ferner [illegible] Erfahrungen hinzu, die der eine von uns (S.) an andersgear[illegible]tem Material ebenso wie andere Autoren erheben konnte, daß nämlich gar nicht selten aktive Sera Hemmung geben, ohne daß irgend ein Anhaltspunkt für Lues vorliegt, so hat eine so sichere Bedeutung, wie die Reaktion des inaktivierten Serums, die des aktiven keinesfalls, und auch die Sternsche Modifikation leidet, abgesehen von ihrem häufigen Mißlingen, an derselben Unbestimmtheit.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was nun im einzelnen die Befunde betrifft, die wir bei unseren Untersuchungen erheben konnten, so sind sie hauptsächlich charakterisiert und wichtig durch die Art des Menschenmaterials, das unseren Erhebungen diente.

Seit dem April 1908 haben wir nämlich an der Krankenstation des städtischen Obdachs unsere Untersuchungen mit der Wassermannschen Serumreaktion auf Lues angestellt. Die Kranken dieser Station sind geschlechtskranke Frauen, welche von der Sittenpolizei eingeliefert werden. Zu $^2/_3$ ungefähr sind es Prostituierte, die zum Teil schon jahrzehntelang unter der sittenpolizeilichen Kontrolle stehen; etwa $^1/_3$ sind herumstreichende, geschlechtskrank befundene Personen, die von der Polizei wegen ihres anstößigen Benehmens angehalten wurden. Jedenfalls sind alle Insassen Personen, die in viel höherem Grade der syphilitischen Infektion ausgesetzt waren, als irgend eine andere Bevölkerungsklasse. Freiheit von syphilitischer Erscheinung bedeutet hier nicht Gesundheit bezüglich der Syphilis, sondern vielleicht nur Symptomlosigkeit. So fanden wir denn auch unter 41 Mädchen, die noch nicht 26 Jahre alt waren und die nicht das geringste Zeichen, das auf Syphilis hindeutete, darboten, W + 22 (unter diesen zeigten 3 bald nachher die ersten klinischen Zeichen von Lues); W — 19 (unter diesen wurde die Infektion mit Lues 2mal nach der Blutuntersuchung beobachtet). Es handelt sich demnach um ein außerordentlich durchseuchtes Krankenmaterial. Es ist gänzlich ungeeignet, etwa Betrachtungen über die absolute Zuverlässigkeit der Reaktion anzustellen. Diese haben wir als feststehend angenommen; einen Fall, der dieser Annahme sicher widersprochen hätte, haben wir nicht beobachtet, wenn uns auch im Einzelfalle Reaktion und Verlauf mit einander verglichen, gelegentlich in Erstaunen setzten.

Wenn wir von den unbehandelten, beginnenden, auch klinisch sicher diagnostizierbaren sekundären Luesfällen ausgehen, so haben wir in

98 Proz. zusammen	46 Fällen = 92 Proz. übereinstimmend völlige Ablenkung mit allen angewandten Extrakten erhalten (W +),
	3 Fällen = 6 Proz. schwache Ablenkung oder Ablenkung nur mit einer Anzahl von Extrakten (W ±).
	1 Fall = 2 Proz. völlige Lösung mit allen Extrakten (W —).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Recht ähnlich war das Ergebnis mit unbehandelter, bisher erscheinungsloser tertiärer Syphilis, von der eine erhebliche Anzahl auf der Abteilung vorhanden war, die aber bei weitem nicht alle untersucht wurden[1]). Sie ergaben in

28 Fällen W + = 93 Proz., keine zweifelhaften Fälle und in
2 Fällen W — = 7 Proz.

5 Fälle mit Zeichen hereditärer Lues (darunter 4 Erwachsene, nur 1 Kind von 7 Jahren) ergaben sämtlich W +,
2 Fälle von Keratitis parenchymatosa ohne andere Lueszeichen ergaben W +,
2 ebensolche, von denen einer seit der Kindheit viel mit Hg behandelt worden war, hatten W —.

Unter den positiven Fällen befanden sich 4 mit Zeichen von Tabes dorsalis (3mal ausgebildete Tabes dorsalis und 1mal Pupillenungleichheit und -starre), 1mal Frühapoplexie, 1mal Zungenulcus.

Wir haben also unter 80 Fällen unbehandelter, klinisch sicherer Syphilis nur 3mal W —, in 50 Fällen frischer Syphilis nur 1mal W —.

Unsere Untersuchungen geben, wie die aller früheren Autoren, Anhaltspunkte über den Einfluß der Syphilisbehandlung. Da sie mit allen bekannten Angaben gut übereinstimmen, führen wir hier nur kurz die erhaltenen Zahlen an.

Wir fanden bis 4 Jahre post infectionem bei irgendwie, gut- oder schlechtbehandelter Lues:

W + 47mal = 57 Proz.
W ± 13mal = 16 Proz.
W — 22mal = 27 Proz.

Hier ist schon die Ungleichheit des Resultats auffallend, namentlich in Ansehung des Umstandes, daß es sich doch um klinisch ganz sichere und fast immer noch ungeheilte Lues handelt.

Fast dieselben Zahlen ergab die Untersuchung des Blutes gleich nach der Kur:

W + 20mal = 62,5 Proz.
W ± 4mal = 12,5 Proz.
W — 8mal = 25 Proz.

---

1) Es sei hier bemerkt, daß unter 400 Fällen von alten Puellen (die entweder seit mindestens 6 Jahren syphilitisch waren oder 10 Jahre unter Kontrolle standen, 186 Zeichen tertiärer Lues darboten. 43 von ihnen hatten keine syphilitische Anamnese und Behandlung vor dem Auftreten der tertiären Syphilis.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Und dieselben Verhältnisse erhielten wir von alter Lues ohne Erscheinungen, die irgendwie, wenn auch noch so wenig, mit Hg behandelt war:

W + 62 = 62 Proz.
W ± 9 = 9 Proz.
W — 29 = 29 Proz.

Ganz negativ sind also bei irgendwelcher Hg-Behandlung 25—29 Proz. der Fälle, ganz gleich, ob sofort oder jahrelang nach der Behandlung untersucht wurde.

Betrachten wir die Qualität der Behandlung, so lassen sich 2 Gruppen unterscheiden, die wenig und die vielbehandelten, wobei im allgemeinen als wenig behandelt die Kranken, welche 1, 2 und 3 Kuren durchgemacht haben, angesehen werden müssen.

Bei 1 Kur haben wir W + 68, W — 26;
bei 2 Kuren W + 27, W — 8;
bei 3 Kuren W + 29, W — 8.

Insgesamt haben wir also bei 1—3 Kuren:
W + 124 = 75 Proz.
W — 42 = 25 Proz.[1]).
Bei 4 Kuren haben wir W + 8, W — 7;
bei 5 Kuren W + 5, W — 5;
bei 6—10 Kuren W + 4, W — 9.

Insgesamt haben wir also bei 4—10 Kuren:
W + 17 = 45 Proz.
W — 21 = 55 Proz.

Dasselbe Verhältnis ergibt die chronisch-intermittierende Behandlung nach Fournier-Neisser, wenn sie beendet oder mindestens 2 Jahre streng durchgeführt war:

W + 6 = 25 Proz. } 42 Proz.
W ± 4 = 17 Proz. }
W — 14 = 58 Proz.

Die bisher mitgeteilten Zahlen betrafen durchweg Fälle, bei denen nach der Behandlung weitere Krankheitserscheinungen bisher nicht beobachtet wurden.

Sehr erheblich ändern sich aber diese Verhältnisse, wenn doch noch nach Jahren bei solchen behandelten Personen

1) Bei diesen Berechnungen ist W + und W ± zusammengezogen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

tertiäre Erscheinungen auftreten. Da erhielten wir unter 39 Fällen:

W + 33 = 85 Proz. } 95 Proz.
W ± 4 = 10 Proz. }
W — 2 = 5 Proz.,

ein bedeutendes Ueberwiegen der positiven Reaktion gegenüber den vorher besprochenen, latent gebliebenen Fällen, das sich ganz der Zahl unbehandelter tertiärer Lues (93 Proz.) anschließt.

Diese Zahlen stimmen mit den bekannten anderen Untersuchungen gut überein.

Die Eigenart unserer Patientinnen bringt es aber mit sich, daß wir hier eine ganz eigentümliche Art von Fällen vor uns haben, wie sie in anderen Krankenabteilungen nicht in so großer Zahl vorkommen. Dies sind die alten Puellen, die ihr Leben lang in ausgiebigster Weise Gelegenheit hatten, sich mit Syphilis zu infizieren, da sie ohne Zweifel mit Syphilitischen aller Alter und Ansteckungsgrade geschlechtlich verkehren mußten, und die doch weder etwas von überstandener Syphilis wissen, noch je bei der polizeiärztlichen Untersuchung syphilitisch befunden wurden, die nie behandelt wurden und auch keine Zeichen von überwundener Syphilis aufweisen. Man hat diese Puellenkategorie immer schon als syphilitisch angesehen, und Meirowsky und Dreyer haben an einem ähnlichen Material in Cöln nachgewiesen, daß sie wirklich in überwiegender Zahl die Wassermannsche Reaktion geben. Damit stimmen unsere Befunde überein. Wir fanden unter 60 Puellen, die mindestens 5 Jahre unter sittenpolizeilicher Kontrolle standen, nie auf der Krankenstation wegen Syphilis behandelt wurden (wenn sie auch oft wegen anderer Leiden eingeliefert wurden), und weder anamnestisch noch an ihrem Körper etwas von Syphilis aufwiesen, W + 53mal (darunter 1mal Elephantiasis vulvae, 1mal Pupillenstarre, 1mal Diabetes), W ± 1mal, W — 6mal. Von diesen negativen Fällen hatte aber eine ein gummiverdächtiges Ulcus der Portio, 1 Narben am Knie unbestimmbarer Natur, 1 glatte Zunge. Eine 4. bekam einige Monate später ein tuberoserpiginöses Syphilid, wie um uns über die Bedeutungslosigkeit des unerwarteten negativen Blutbefundes aufzuklären. Nehmen wir auch die übrigen un-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sicheren Zeichen als Syphiliszeichen an, so bleiben von allen 60 nur 2 mit sehr langer öffentlicher Laufbahn übrig, denen wir keine Syphilis nachweisen können, die aber höchstwahrscheinlich ebenfalls als infiziert anzusehen sind.

Nehmen wir zu diesen 60 noch die 30 Fälle von tertiärer Syphilis bei Puellen ohne Anamnese und ohne Vorbehandlung hinzu, die wir im Anfang verzeichnet haben, so erhalten wir 90 unbehandelte alte Luesfälle, von denen nur 8 eine negative Reaktion hatten, von denen 34 = 38 Proz. tertiäre Zeichen hatten, von denen aber nur 5 schwerer erkrankt waren, 4 an Tabes, 1 an einer Apoplexie. Diese Befunde haben gewiß ein großes klinisches Interesse; weit größer ist aber noch die Bedeutung, die sie in volkswirtschaftlicher und allgemeinhygienischer Hinsicht beanspruchen dürfen, denn anders ausgedrückt, lautet das eben mitgeteilte Resultat; unter 90 Puellae publicae, die keinerlei Zeichen anamnestischer oder körperlicher Art[1]) von Lues darboten, waren nur 2, denen man eine syphilitische Infektion in ihrer Laufbahn nicht mit Sicherheit nachweisen konnte.

Zusammenfassung.

Die Mitteilungen umfassen einen allgemeinen und einen speziellen Teil. Im allgemeinen Teile werden neue Beiträge zum Wesen der Organextrakte (Versuch einer chemischen Charakterisierung), der syphilitischen Hemmungskörper und des Mechanismus der Komplementbindungsreaktion beigebracht.

Im speziellen Teile werden Untersuchungen mitgeteilt über die Brauchbarkeit der modifizierten Methoden (nach Seligmann, Bauer und Stern); weiterhin Untersuchungen an einem großen, stark durchseuchten Krankenmaterial und an Prostituierten.

1) Wir sind wohl berechtigt, die 30 Tertiärfälle ohne Anamnese und Vorbehandlung hinzuzurechnen, da sie ja vor dem Ausbruch der Tertiärerscheinungen genau in die gleiche Kategorie gehörten wie die übrigen 60 symptomlosen Fälle.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institute in Wien;
Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Zur Kritik der Prüfungsmethoden des Meningokokkenserums.

Von Dr. **St. Baecher** und Reg.-Arzt Dr. **J. Hachla.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Februar 1910.)

In einer vor mehreren Monaten erschienenen Publikation haben Kraus und Baecher auf Grund einer eingehenden Analyse der Wirkungsweise des Meningokokkenserums die Zulässigkeit der von Kolle und Wassermann empfohlenen Wertbestimmung auf Basis der Komplementfixation in Zweifel gezogen. Dagegen wurden der von Kraus schon früher angegebene Nachweis antitoxischer Fähigkeit und die nach Neufelds Vorschrift (in vitro) oder nach einem von den Autoren selbst ausgearbeiteten Verfahren (in vivo) auszuführende Bestimmung der bakteriotropen (antibakteriellen) Wirkung als brauchbare Prüfungsmethoden akzeptiert. In der Diskussion über dieses Thema auf der 3. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie, hatten demgegenüber sowohl Wassermann wie Kolle neuerdings die Komplementablenkungsmethode insbesondere ihrer Exaktheit und Verläßlichkeit halber wenigstens in erster Reihe für die Wertbestimmung empfohlen. Vor allem die Arbeiten von Krumbein und Schatiloff sowie die von Krumbein und Diehl boten die experimentellen Grundlagen dieser Stellungnahme. In der ersten Publikation waren die Verfasser zwar selbst dazu gelangt, die Verschiedenheit der komplementablenkenden Körper von den echten im Tierversuch wirksamen Ambozeptoren, die Abhängigkeit des Titers eines Serums von dem verwendeten Stamm anzuerkennen. Ebenso hatten sie festgestellt, daß die Agglutinationswerte keineswegs mit denen der Komplementablenkung parallel gehen. Gleichwohl glauben sie auf Grund nicht näher erörterter klinischer Erfahrungen mit ihren als hochwertig

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

festgestellten Seris auf der Methode nach Bordet-Gengou bestehen zu können. In der zweiten Arbeit haben die Autoren sogar die Bedeutung antiendotoxischer Eigenschaften für die Heilkraft des Serums anerkannt, andererseits auch festgestellt, daß Sera trotz des mit der Komplementverankerung nachgewiesenen Gehalts an spezifischen Stoffen im Tierversuch unwirksam sein können, gleichwohl erklären sie die Wertbestimmung auf Antitoxine als praktisch unbrauchbar und treten für die von Kolle und Wassermann vorgeschlagene Methode ein. Aber schon Kraus und Baecher hatten ihren ablehnenden Standpunkt nicht nur auf Grund theoretischer Erwägungen eingenommen — es fehlt jeder Beweis für den Zusammhang der komplementbindenden Körper mit den für den Heilwert entscheidenden Substanzen, wie nunmehr auch Kolle und seine Schüler zugeben, — sondern auch in Hinblick auf die sehr eigentümlichen Resultate, die sich bei ihren Versuchen über Komplementablenkung durch Meningokokkenserum ergeben hatten. Es zeigten sich nämlich, ähnlich wie bei der Agglutination, so auffällige Differenzen je nach den als Antigen verwendeten Stämmen, daß an „eine Vielheit der komplementbindenden Körper im Serum“ gedacht werden konnte.

Eine eingehende Untersuchung dieser Verhältnisse schien uns schon im Hinblick auf die Kontroverse betreffs der Wertbestimmung erwünscht. Wir haben daher die Agglutination, die bakteriotrope Wirkung und insbesondere die Komplementablenkung durch Meningokokkenserum außer mit den schon vorher verwendeten mit einer Reihe neuer Stämme in entsprechenden Parallelreihen untersucht und schließlich durch Herstellung von univalenten (nur mit einem Stamm hergestellten) Immunseren den Versuch gemacht, die Abhängigkeit der geprüften Phänomene von den benutzten Stämmen eindeutig festzustellen.

Zur Verwendung gelangten im ganzen 13 als Meningokokken bezeichnete Stämme (I, III, IV, V, VI, VIII, VIII B, X, M, T, Triest, Worb, Neufeld). Die beiden letztgenannten verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Schweizer staatlichen Seruminstituts (Worb) und des Kaiserlichen Gesundheitsamtes in Berlin (Neufeld), sämtliche übrigen sind aus dem Lum-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

balpunktat von Meningitisfällen gezüchtete Stämme, die wir zumeist Herrn Prof. Sternberg in Brünn verdanken. Davon sind VIII B, X, T, und Triest schon lange fortgezüchtete Laboratoriumsstämme, die Stämme I, III, IV, V, VI, VIII und M erhielten wir erst bei Inangriffnahme unserer Versuche. Die frisch gezüchteten Stämme wuchsen nur spärlich auf Agar, sämtliche Stämme aber sehr üppig auf Löfflerserum bei dreitägiger Ueberimpfung. Nach mehrwöchentlicher Züchtung aber waren alle Stämme auch auf Agar gut kultivierbar. Auffallend war hier das besonders üppige Wachstum der Stämme VIII B und X. Alle Stämme waren natürlich gramnegative Diplokokken von typischer Gestalt. Das eigentümliche Verhalten der eben genannten Stämme VIII B und X in den Komplementablenkungs- und Agglutinationsversuchen bewog uns schließlich, auch die von v. Lingelsheim angegebenen Zuckernährböden zur Identifizierung heranzuziehen. Tatsächlich zeigten hier diese Stämme im Gegensatz zu den übrigen, die in typischer Weise nur Maltose und Dextrose röteten, keinerlei Veränderung der drei Zuckerarten, so daß wir sie, obwohl von Meningitisfällen stammend, nicht mehr als echte Meningokokken, sondern nur als Meningokokken-ähnliche anerkennen können. Außerdem wurde in gewissen Versuchen ein Micrococcus katarrhalis mitgeprüft, der auch auf den v. Lingelsheim-Nährböden das typische Verhalten zeigte.

A. Versuche mit polyvalenten Pferdeseris.

Die zur Untersuchung gelangenden Immunsera waren zunächst die verschiedenen Aderlässe der Pferde „Lorenz“ und „Mustang“, die schon seit Monaten mit großen Dosen Meningokokkenextrakt immunisiert waren, ferner zwei alte Meningokokkensera unseres Institutes (Men. Ser. II vom 26. II. 1907 und Klara vom 19. VI. 1907), zwei Sera fremder Herkunft (Ser. meningok. des Schweizer staatl. Seruminstituts, in den Protokollen „Kolle“ genannt, und das Meningokokkenserum der Höchster Farbwerke von Prof. Ruppel), endlich Serum von Pferd „Marius“, das vom Juni 1909 ab mit Meningokokkenextrakt immunisiert wurde und daher zur Zeit unserer Versuche noch sehr minderwertiges Serum lieferte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

I. Agglutination.

Die Agglutination wurde in der Weise untersucht, daß 0,5 (eventuell 1,0) von einer Aufschwemmung einer 24-stündigen Schrägagarkultur in 5,0 physiologischer Lösung mit dem gleichen Volumen der entsprechenden Serumverdünnung gemischt wurde. Abgelesen wurde nach 2 resp. 24 Std. bei 37°.

Tabelle I.

Stamm	I	III	IV	V	VI	VIII	M	T	Worb	Triest	Neu-feld	VIIIB	X
a) Agglutination durch normales Pferdeserum.													
Meta 10. IX. 08	.	θ	.	θ	.	1/40	1/40	θ	θ	.	.	.	.
Meta 12. XII. 08	.	.	θ	.	.	θ	1/20	.	θ	θ	.	.	θ
Maat 21. XII. 08	.	.	θ	.	.	θ	1/10	.	θ	θ	.	.	θ
Mina 2. I. 09	.	.	θ	.	.	θ	1/10	.	θ	θ	.	.	θ
Nero 21. XII. 08	θ	θ	.	θ	.	.	.	θ	.	.	θ	θ	.
Luitpold 2. I. 09	θ	θ	.	θ	.	.	.	θ	.	.	θ	θ	.
Ilsan 21. XII. 08	1/10	θ	.	1/10	.	.	.	θ	.	.	θ	θ	.
Ludwig 12. XII. 08	θ	θ	θ	θ	θ	θ	1/100	.	θ	θ	1/10	θ	θ
Miss 2. I. 09	θ	θ	θ	θ	θ	θ	1/20	.	θ	θ	1/10	θ	θ
Mina 12. XII. 08	θ	θ	θ	θ	θ	θ	1/20	.	θ	θ	1/20	θ	θ
b) Agglutination durch Meningokokkenserum.													
Men. Ser. II 26. II. 07	.	.	θ	.	1/100	1/100	.	.	.	θ	.	θ	1/20
Klara 19. VI. 07	θ	θ	1/400	1/200	1/200	θ	1/100	θ	θ	.	θ	.	.
Kolle	1/400	1/400	1/400	1/400	1/400	1/100	.	.	1/400	1/200	1/400	1/40	1/20
Ruppel	θ	θ	θ	θ	θ	1/40	1/200	.	θ	1/100	1/200	θ	.
Marius 22. VI. 09	1/20	1/20	1/40	1/40	1/40	θ	.	.	1/20	.	1/20	.	.
Lorenz 17. II. 08	1/40	1/40	1/40	.	.	.	1/100	1/200	.	.	.	.	.
Lorenz 8. IV. 08	1/200	1/200	1/100	1/200	1/200	.	.	.	.	1/40	1/100	1/100	θ
Lorenz 30. VI. 08	1/40	1/40	1/40	1/40	1/100	1/100	1/200	1/40	1/40	1/40	1/40	1/200	1/40
Lorenz 20. X. 08	1/20	1/20	θ	θ	θ	1/20	1/40	1/20	1/20	1/40	1/40	1/200	θ
Lorenz Jan. 09	.	1/20	.	1/20	.	1/20	1/80	1/40	1/20	.	1/40	.	.
Lorenz 15. III. 09	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	1/40	1/40	1/40	1/40	1/20	1/200	1/200
Lorenz 19. IV. 09	1/200	1/100	1/100	1/200	1/200	1/100	1/200	1/200	1/200	1/100	1/100	1/200	1/40
Mustang 22. IX. 08	1/200	1/200	.	1/200	.	.	1/200	1/200	.	.	1/100	.	.
Mustang 19. II. 08	1/40	1/20	1/20	θ	1/40	1/20	1/200	1/40	1/40	1/80	1/40	1/120	1/40
Mustang Jan. 09	.	1/40	.	1/40	.	1/120	1/200	1/40	1/40	.	.	.	.
Mustang 12. VI. 09	1/40	1/40	1/400	1/100	1/40	1/40	.	.	1/200	.	1/20	.	.
Mustang 27. VII. 09	1/400	1/200	1/400	1/200	1/400	1/200	.	.	1/200	.	1/40	.	.

In der Tabelle I sind die Resultate einer ganzen Reihe von Versuchen zusammengefaßt. Manche Differenzen mögen auch darin begründet sein. Im ganzen zeigt sich, daß mit den zahlreichen Kontrollseren (meist Diphtherieheilserum) nur der Stamm M nennenswerte Agglutination (bis 1 : 100) erreichte, sonst wurde nur spurenweise Agglutination, z. B. bei Stamm Neufeld, beobachtet. Stamm M ist anscheinend überhaupt besonders agglutinabel, mit den Immunseris gab er nämlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch fast immer höhere Werte als die meisten anderen Stämme. Bei den Immunseris war nun der Umstand ins Auge zu fassen, daß einige Stämme (nämlich T, Triest, teilweise auch Neufeld, Worb und schließlich auch die unechten Stämme VIII B und X) zur Herstellung mehrerer der Sera (Mustang und Lorenz) gedient hatten. Trotzdem läßt sich nicht konstatieren, daß diese Sera gerade mit den genannten Stämmen höhere Werte ergaben. Die Resultate sind auch, wenn man von den Stämmen VIII B und X absieht, höchst unregelmäßig. Einzelne Aderlässe (Sera) scheinen zwar mit allen echten Stämmen hohe, andere mit allen wesentlich geringere Titer zu erreichen, außerdem aber finden sich Fälle, wo ein Serum (z. B. Klara) mit den meisten Stämmen überhaupt keine, mit anderen sehr starke Agglutination gibt, ein anderes Serum (z. B. Ruppel und Men. II) gibt wieder hohe Werte mit ganz anderen Stämmen. Zur Wertbestimmung wäre daher die Agglutination gewiß nicht geeignet, aber auch ihren differentialdiagnostischen Wert könnte man, wenn wir die Differenzierung durch die Zuckernährböden nach v. Lingelsheim anerkennen, kaum sehr hoch anschlagen. Fiel doch in einer ganzen Reihe von Versuchen die Prüfung mit einzelnen echten Stämmen negativ aus, während die unechten Stämme VIII B und X auch vom Serum „Kolle", zu dessen Herstellung sie nicht gedient hatten, deutlich, wenn auch schwächer als die echten agglutiniert werden. Mit den Seris Lorenz und Mustang erreichten sie sogar sehr hohe Titer, und zwar gerade in den sonst minderwertigen Aderlässen. Dem Micrococcus katarrhalis und entfernter stehenden Kokken gegenüber scheint sich die Agglutination allerdings verwenden zu lassen, indem wir hier mit den Meningokokkenseris stets negative Resultate erhielten. Doch kann der negative Ausfall der Agglutinationsprüfung nach dem oben Gesagten nur dann gegen die Diagnose „Meningokokken" sprechen, wenn er mit mehreren genügend hochwertigen Seris erhalten wurde.

II. Bakterotropine.

Die im klinischen Bilde der Meningitis so ausgeprägte Bedeutung der Phagocytose unter den Reaktionen des Organismus, die von Kraus und Baecher bei ihren Infektions-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

versuchen eklatant bewiesene Rolle, die die Phagocytose resp. deren Verstärkung durch Immunserum für die Bakterienvernichtung im Peritoneum des Meerschweinchens hat, hatten es nahe gelegt, die von Neufeld empfohlene Methode der Messung der bakteriotropen Kräfte eines Serums zur Wertbestimmung des Meningokokkenserums mitzuverwenden. Allerdings wäre gegen diese Prüfungsart von vornherein das Bedenken geltend zu machen, daß sie nur die Phagocytoseförderung für Meerschweinchenleukocyten mißt, die nicht unbedingt mit der für menschliche übereinstimmen muß, wie insbesondere bei der vielseitigen Nachprüfung der Opsonintheorie (Hektoen, Baecher) festgestellt wurde. Die Einfachheit der Technik und Anschaulichkeit der Resultate sprachen aber sehr zugunsten von Neufelds Verfahren. Freilich hatte Neufeld selbst (mit Haendel) bemerkt, daß auch für seine Prüfungsmethode keineswegs alle Meningokokkenstämme brauchbar seien, und Kraus und Baecher hatten neben ihren positiven Versuchen (vor allem mit dem von Herrn Reg.-Rat Neufeld freundlichst übersendeten Stamm) mit anderen Stämmen keine brauchbaren Ergebnisse erhalten. Da wir uns in allen wesentlichen Punkten streng an die von Neufeld und Haendel gegebene Vorschrift hielten, konnten auch wir die Ursache solcher Versager nur in der Unbrauchbarkeit der betreffenden Stämme suchen. Zwei Momente schienen uns in dieser Richtung besondere Beachtung zu verdienen: die Stärke der Spontanphagocytose und die schlechte resp. ungleichmäßige Färbbarkeit der Kokken. Die erstere war mindestens bei Verwendung so dichter Emulsionen, wie sie Neufeld und Haendel fordern, bei den meisten Stämmen derart, daß eine Verstärkung sich nicht mehr erkennen ließ. Die Färbbarkeit aber ließ auch bei Verwendung junger (20 Stunden alter) Agarkulturen stets viel zu wünschen übrig. Als die relativ besten unserer Stämme bei Berücksichtigung dieser beiden Erfordernisse erwiesen sich VIII und Neufeld. Wir haben daher in einer Reihe von Versuchen vorwiegend mit diesen Stämmen mehrere Immunsera resp. Aderlässe zum Teil wiederholt auszuwerten versucht. Aber nur einzelne der Bestimmungen ergaben deutliche und verläßliche Resultate. So schien in einem Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

such (Tabelle III) sogar die Uebereinstimmung der beiden Stämme vollkommen. Vergleicht man aber diesen Versuch mit den Resultaten auf Tabelle II, so zeigten sich die Titer der Aderlässe Mustang vom 12. VI. und vom 27. VII. nicht nur absolut verschieden, sondern im Verhältnis zueinander geradezu umgekehrt. (Nach dem Titer der Agglutination und

Tabelle II.

Bakteriotropinaufschwemmung.

0,2 Bakt.-Aufschw. + 0,2 Serum (verdünnt ad 0,2 phys. Lösung) + 0,2 Leukocyten. Bakt.-Aufschwemmung: 20h Agarkultur von St. VIII in 3,0 ccm Bouillonkochsalzlösung aufgeschwemmt.

Sera: Men.-Ser. II vom 26. II. 07
Mustang vom 26. IX. 08, 12. VI. 09 und 27. VII. 09 } inaktiviert

Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat (6h nach Injektion von Bouillonkochsalzgemisch) in 1,5-proz. Citrat aufgefangen, dann 3mal gewaschen.

Ausstriche nach 1h bei 37°, Färbung nach Manson.

Verdünnung	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	θ (Kontrolle)
Men.-Ser. II 26. II. 07	sehr stark	stark	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig
Mustang 26. IX. 08	sehr stark	sehr stark	sehr stark	sehr stark	stark	stark	—
Mustang 12. VI. 09	dgl.	dgl.	dgl.	sehr stark	sehr stark	sehr stark	—
Mustang 27. VII. 09	dgl.	dgl.	dgl.	sehr stark	stark	stark	—

Tabelle III.

Bakteriotropinbestimmung. Technik wie in Tabelle II.

Meningokokkenstamm	Serum	1/10	1/100	1/1000	1/10000
VIII Neufeld	Mustang 12. VI. 09	sehr stark dgl.	mäßig dgl.	mäßig dgl.	mäßig dgl.
VIII Neufeld	Mustang 27. VII. 09	sehr stark dgl.	sehr stark dgl.	stark dgl.	stark dgl.
VIII Neufeld	Marius 8. VII. 09	sehr stark sehr stark	stark dgl.	mäßig dgl.	mäßig dgl.
VIII Neufeld	θ θ	mäßig dgl.	— —	— —	— —

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Komplementablenkung wäre wohl der Aderlaß vom 27. VII. viel höherwertiges Serum.) Auffällig ist auch in Hinblick auf sein sonstiges Verhalten der niedrige Wert des alten Men.-Ser. vom 26. II. 07. Dagegen gibt Tabelle IV, wenn auch in

Tabelle IV.

Bakteriotropinbestimmung. Technik wie in Tabelle II. Meningokokken St. Neufeld.

Verdünnung	1/5	1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	θ Ser. (Kontrolle)
Mustang 8. VII. 09	sehr stark	sehr stark	stark	stark	stark	zieml. stark	zieml. stark	mäßig	sehr mäßig
Marius 8. VII. 09	dgl.	stark	stark	zieml. stark	mäßig	sehr mäßig	sehr mäßig	sehr mäßig	—
Igor (Streptokokkenser. 8. VII. 09	stark	stark	zieml. stark	mäßig	dgl.	—	—	—	—

absolut nicht hohen Verdünnungen, doch recht gut die verschiedene Wertigkeit des hochimmunisierten „Mustang" gegenüber dem neueingestellten „Marius" und dem nicht spezifischen „Igor" wieder. Neben diesen und anderen nicht weiter mitzuteilenden, anscheinend brauchbaren Wertbestimmungen haben wir aber stets auch völlig mißlungene Prüfungsversuche erlebt, fast immer infolge zu starker Spontanphagocytose. Und fast scheint es uns, als ob die Stämme bei längerer Fortzüchtung mit dem besseren Wachstum auf Agar für die Ausführung der Bakteriotropinversuche minder geeignet wurden, so daß es wirklich schwierig wäre, stets passende Meningokokken zur Hand zu haben. Wir konnten noch nicht feststellen, ob sich die abnehmende Eignung der Stämme nicht etwa durch Passierung durch Meerschweinchen wiederherstellen oder sogar verstärken ließe. Unter diesen Umständen könnten wir kaum empfehlen, die Wertbestimmung des Meningokokkenserums auschließlich auf der Bakteriotropinprüfung aufzubauen, doch scheint sie uns eine brauchbare Ergänzung der Antitoxinmethode, wie sie Kraus und Doerr ausgearbeitet haben, zu sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf die Phagocytose des Micrococcus katarrhalis ließ sich ein fördernder Einfluß des Meningokokkenserums schon infolge der enormen Spontanphagocytose dieser Bakterien nicht nachweisen.

III. Komplementablenkung.

Ehe wir an die Auswertung unserer Immunsera auf komplementablenkende Körper gingen, schien es uns von Interesse mit der vereinfachten Technik, die Kraus und Baecher verwendet hatten, alle unsere Stämme mit einigen Seris durchzuprüfen, um ihre Eignung als brauchbare Antigenen überhaupt festzustellen. Als Antigene dienten uns in diesen wie in allen übrigen Ablenkungsversuchen einfache Kochsalzabschwemmungen von 24 Stunden alten Schrägagarkulturen, wobei für die Stammemulsionen je 5,0 ccm auf eine Kultur verwendet wurden. Nach jedesmaliger Auswertung der unterhemmenden Dosis der einzelnen Antigene mit dem zur Verwendung gelangenden hämolytischen System (Hammelblut-Kaninchenambozeptor-Meerschweinchenkomplement) wurde die Hälfte der größten lösenden, eventuell auch die Hälfte der kleinsten hemmenden Dosis mit den vorher in derselben Weise isoliert ausgewerteten, inaktivierten Serummengen, eventuell mit noch kleineren Quantitäten dieser vereinigt auf ihre komplementbindende Fähigkeit geprüft. Vor Zusatz der Ambozeptorblutmischung ließen wir Antigen und Antikörper durch $^1/_2$ Stunde bei 37° auf das Komplement wirken. Zur Hämolyse blieben die Mischungen 1 Stunde im Brutschranke, doch erfolgte die endgültige Ablesung der Resultate erst am nächsten Morgen.

In der Tabelle V sind nun die mit der Hälfte der größten lösenden Dosis Antigen in mehreren getrennten Versuche erhaltenen Ergebnisse vereinigt. Wegen der bei unserer Technik jedesmal verschiedenen Serummengen, die selbst hemmten, kommt hier nicht ein Vergleich der mit den einzelnen Stämmen erreichten absoluten Hemmungswerte in Betracht. Bei dieser Versuchsreihe handelt es sich vielmehr nur um die Tatsache spezifischer Hemmung überhaupt, die durch die Kontrollen im Einzelfall für die verwendeten Dosen festgestellt wurde. Dabei zeigt sich wieder, daß das Phänomen der Komplement-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Hämolyse nach 24ʰ bei entsprechenden Kontrollen.

	Dosis	I	III	IV	V	VI	VIII	M	T	Worb	Triest	Neu-feld	VIII B	X
Lorenz vom Januar 09	0,03	—	—	—	—	Spur	—	—	part.	Spur	—	—	part.	part.
	0,02	θ	—	—	—	„	—	—	„	„	—	—	f. kompl.	f. kompl.
	0,01	θ	θ	θ	Spur	„	part.	f. kompl.	„	„	θ	Spur	kompl.	kompl.
	0,005	θ	θ	θ	θ	—	f. kompl.	„	—	—	Spur	part.	f. kompl.	—
	0,0025	—	—	θ	—	—	„	kompl.	—	—	—	—	—	—
Mustang vom Januar 09	0,04	—	—	—	—	θ	—	—	part.	Spur	—	—	part.	part.
	0,03	—	—	—	—	θ	—	—	„	„	—	—	f. kompl.	„
	0,02	θ	—	—	—	Spur	—	—	„	„	—	—	„	f. kompl.
	0,01	θ	θ	θ	θ	—	Spur.	f. kompl.	—	—	θ	Spur	„	—
	0,005	θ	Spur	θ	θ	—	part.	„	—	—	θ	„	kompl.	—
	0,0025	—	—	θ	—	—	„	kompl.	—	—	—	—	—	—
Men.-Serum „Kolle“	0,02	—	—	—	—	Spur	—	—	part.	Spur	—	—	f. kompl.	f. kompl.
	0,01	—	—	θ	—	„	part.	part.	„	„	—	—	kompl.	kompl.
	0,005	—	θ	θ	θ	part.	„	kompl.	„	„	θ	θ	„	„
	0,0025	—	Spur	θ	θ	—	„	„	—	–	Spur	Spur	„	—
Diphtherie-Serum Landsturm 2. I. 09	0,04	—	—	—	—	f. kompl.	—	—	f. kompl.	f. kompl.	—	—	f. kompl.	kompl.
	0,03	—	—	—	—	kompl.	—	—	„	„	—	—	„	f. kompl.
	0,02	kompl.	—	—	—	„	—	—	kompl.	kompl.	—	—	„	kompl.
	0,001	„	kompl.	part.	kompl.	—	kompl.	kompl.	—	—	kompl	kompl.	„	—
	0,005	„	„	„	„	—	„	„	—	—	„	„	kompl.	—
	0,0025	—	—	f. kompl.	„	—	„	„	—	—	—	—	—	—

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

bindung in hohem Grade von dem als Antigen verwendeten Stamme abhängt. Von den unechten Stämmen abgesehen, deren fast völliges Versagen nicht verwundern kann, zeigen auch die echten Stämme auffallend verschieden starke Eignung, als Antigene zu dienen. Bei einigen ist kaum eine spezifische Ablenkung zu erkennen. Freilich müssen wir zugestehen, daß wiederholte Versuche mit den einzelnen Stämmen nicht immer ganz übereinstimmende Resultate ergaben, so daß die Eignung als Antigen vielleicht nicht allein eine Eigenschaft des betreffenden Stammes, sondern auch der eben verwendeten Kultur, abhängig von ihrem Alter (Markl), dem Nährboden, der Art der Gewinnung der Aufschwemmung sein könnte. Auffallende Neigung bestimmter Stämme zu einzelnen Seris konnten wir hier noch nicht konstatieren, diese konnte wohl nur bei einer quantitativen Auswertung zutage treten.

In einer Reihe von Versuchen trachteten wir daher die Hemmungskraft unserer Sera zahlenmäßig zu erfassen, indem wir mit der entsprechenden Dosis Antigen, die wieder jedesmal vorher genau ausgewertet wurde (Hälfte der größten, eben noch komplette Lyse zulassenden Menge), von 0,1 ab fallende Serumquantitäten vereinigten. Im übrigen war unsere Technik dieselbe wie vorher. Hierbei ergab sich, daß die absoluten Werte, die bei verschiedenen Versuchen selbst mit ganz gleichen Kombinationen erhalten wurden, keineswegs übereinstimmten. Die kleinste noch deutliche Hemmung auslösende Serummenge, der Hemmungstiter, war z. B.:

für Lorenz vom 19. IV. 09 mit Stamm Neufeld in Tabelle XII 0,007, in Tabelle VI 0,0003,

für Mustang vom 12. VI. 09 mit Stamm Neufeld in Tabelle XII 0,04, in Tabelle VI 0,001, in Tabelle VII 0,003,

für Mustang vom 12. VI. 09 mit Stamm VIII in Tabelle VII und XI 0,003, in Tabelle VIII 0,01, in Tabelle IX 0,03,

für Mustang vom 27. VII. 09 mit Stamm VIII in Tabelle VII 0,001, in Tabelle VIII 0,003,

für Mustang vom 22. IX. 08 mit Stamm VIII in Tabelle VII und XI 0,0003, in Tabelle IX 0,01,

für Meningokokkenserum II vom 26. II. 07 mit Stamm VIII in Tabelle XI 0,001, in Tabelle IX 0,0001.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schon durch diese Tatsache ist einer der größten angeblichen Vorzüge der Komplementablenkung als Wertmesser zweifelhaft geworden. Selbst für eine bestimmte Kombination von Serum und Antigen, wobei das letztere genau ausgewertet wird, gibt es nämlich keinen bestimmten, bei wiederholter Nachprüfung gleich bleibenden Titer, sondern dieser schwankt anscheinend abhängig von dem benutzten Komplement in sehr weiten Grenzen (bis 1 : 40) [1]).

Auch bei der Komplementablenkung bliebe demnach nichts anderes übrig, als der relative Vergleich des zu wertenden Serums mit einem Standardserum, oder da wir ein solches nicht besitzen, mit mehreren anderen Seren. Um festzustellen, ob wir bei solchem Vorgehen zu konstanten Wertverhältnissen gelangen, haben wir zunächst die Hemmungstiter einer großen Anzahl von Seren (Aderlässen) gleichzeitig mit ein und demselben Antigen ausgewertet (Tabelle VI), und mußten nunmehr untersuchen, ob bei einer wiederholten gleichzeitigen Prüfung mehrerer dieser Sera mit demselben Antigen das gegenseitige Verhalten das gleiche blieb.

Wenn man in dieser Hinsicht Tabelle VI und die entsprechenden Unterschiede in Tabelle VII oder in Tabelle XII, oder den anderen Teil der Tabelle VII mit Tabelle VIII resp. den entsprechenden Verhältnissen in Tabelle IX und XI vergleicht, so findet man im allgemeinen gute Uebereinstimmung des gegenseitigen Verhaltens. Weniger gut stimmt aber ein Vergleich gleicher Sera aus Tabelle IX und XI. Zwar ist auch hier Mustang vom 12. VI. 09 in beiden Fällen das mindestwirksame Serum, doch übertrifft in Tabelle IX das Men.-Ser. II vom 26. II. 07 merklich Mustang vom 22. IX. 08, in Tabelle XI aber ist das Verhalten umgekehrt. Selbst die relative Wertung der Komplementbindung mit ein und demselben Antigen scheint also nicht immer eindeutige Resultate zu ergeben.

1) Die Konstanz der Titerwerte bei Verwendung desselben Stammes bei Krumbein und Schatiloff ist uns schon deshalb nicht ganz verständlich, da ja sogar die allein hemmende Dosis eines Serums in verschiedenen Versuchen nicht geringen Schwankungen unterliegt. Es wäre danach überhaupt höchstens denkbar, die Werte in Teilen dieser Menge auszudrücken, nicht aber in absoluten Quantitäten. Aber auch hiermit haben wir keine konstanten Werte erhalten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Komplementablenkung.

Antigen: Stamm Neufeld 0,05 (Kontrolle: 0,1 Komplement). Hämolyse nach 24 Stunden.

Dosis	Lorenz 22. X. 07	Lorenz 17. II. 08	Lorenz 8. IV. 08	Lorenz 20. X. 08	Lorenz 19. IV. 09	Mustang 22. IX. 08	Mustang Jan. 09	Mustang 12. VI. 09	Mustang 27. VII. 09	Men.-Ser. II 26. II. 07	Klara 19. VI. 07	Kolle	Ruppel	Marius 2. I. 09	Marius 24. III. 09	Marius 8. VI. 09
0,1	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	Spur	θ	Spur	Spur	θ
0,03	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	„	θ	part.	part.	part.
0,01	Spur	Spur	Spur	θ	θ	θ	θ	Spur	θ	θ	Spur	θ	Spur	part.	part.	part.
0,003	part.	„	„	θ	Spur	θ	Spur	part.	Spur	part.	part.	part.	part.	f. kpl.	f. kpl.	f. kpl.
0,001	part.	part.	part.	Spur	part.	Spur	part.	part.	part.	part.	part.	part.	part.	kompl.	kompl.	„
0,0003	f. kpl.	f. kpl.	part.	part.	part.	part.	part.	f. kpl.	part.	kompl.	f. kpl.	f. kpl.	kompl.	„	„	„
0,0001	kompl.	part.	f. kpl.	part.	f. kpl.	part.	f. kpl.	part.	f. kpl.	„	„	„	„	„	„	„
0,00003	„	f. kpl.	kompl.	kompl.	„	f. kpl.	„	kompl.	„	„	kompl.	kompl.	„	„	„	kompl.
Kontrollen der Sera (ohne Antigen).																
0,15	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	part.	kompl.	kompl.	Spur	Spur	part.	Spur
0,06	„	„	„	„	„	„	„	„	„	f. kpl.	„	„	part.	kompl.	f. kpl.	f. kpl.
0,02	„	„	„	„	„	„	„	„	„	kompl.	„	„	kompl.	„	kompl.	kompl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Komplementablenkung. Hämolyse nach 24 Stunden.

Serum	Antigen: Stamm Neufeld 0,05 (Kontrolle 0,1 Komplement)			Stamm VIII 0,05 (Kontrolle 0,01 Komplement)		
	Mustang 22. IX. 08	Mustang 12. VI. 09	Mustang 27. VII. 09	Mustang 22. IX. 08	Mustang 12. VI. 09	Mustang 27. VII. 09
0,1	θ	θ	θ	θ	θ	θ
0,03	θ	θ	θ	θ	θ	θ
0,01	θ	Spur	θ	θ	Spur	θ
0,003	Spur	part.	Spur	Spur	part.	Spur
0,001	„	f. kompl.	part.	„	f. kompl.	part.
0,0003	part.	„	f. kompl.	part.	„	f. kompl.
0,0001	f. kompl.	kompl.	kompl.	f. kompl.	kompl.	kompl.
Kontrollen der Sera (ohne Antigen).						
0,15	kompl.	kompl.	kompl.			
0,06	„	„	„			
0,03	„	„	„			

Tabelle VIII.

Komplementablenkung.

Antigen: Stamm VIII 0,2 (Kontrolle 0,4 Komplement, 0,2 Komplement). Hämolyse nach 24 Stunden.

Serum	Mustang 12. VI. 09	Mustang 27. VII. 09
0,2	Spur	θ
0,1	θ	θ
0,03	Spur	θ
0,01	part.	θ
0,003	kompl.	part.
0,001	„	f. kompl.
0,0003	„	kompl.
Kontrollen der Sera (ohne Antigen).		
0,2	kompl.	kompl.
0,1	„	„
0,06	„	„

Gemäß unseren früheren Erfahrungen und manchen Resultaten Krumbein und Schatiloffs, die aber von diesen Autoren anscheinend nicht genügend gewürdigt werden, mußten wir jedoch noch größere Unregelmäßigkeiten bei Verwendung verschiedener Antigene erwarten. Von einem Vergleich der absoluten Werte können wir auch hier von vornherein absehen, es soll nur wie vorher mit einem Antigen das gegenseitige Wertverhältnis der Sera bei Prüfung mit verschiedenen Antigenen geprüft werden. Zu diesem Zwecke geben wir in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX und X die Hemmungstiter mehrerer der in Tabelle VI mit Stamm Neufeld austitrierten Sera mit Antigenen aus Stamm VIII resp. Stamm III wieder, die sich bei gleichzeitiger Untersuchung ergaben.

Tabelle IX.

Komplementablenkung. Antigen Stamm VIII 0,05 (Kontrolle 0,1 Komplement). Hämolyse nach 24 Stunden.

Serum	Lorenz 20. X. 08	Mustang 22. IX. 08	Mustang 12. VI. 08	Men.-Ser. II 26. II. 07	Klara 19. IV. 07	Kolle	Ruppel	Marius 8. VI. 09
0,1	θ	θ	part.	θ	θ	θ	θ	part.
0,03	θ	θ	part.	θ	θ	θ	Spur	f. kpl.
0,01	θ	part.	f. kpl.	θ	θ	θ	part.	„
0,003	Spur	kompl.	kompl.	θ	Spur	Spur	„	kompl.
0,001	part.	„	„	part.	part.	part.	part.	„
0,0003	„	„	„	„	f. kpl.	f. kpl.	f. kpl.	„
0,0001	part.	„	„	part.	kompl.	kompl.	kompl.	„
0,00003	f. kpl.	„	„	f. kpl.	„	„	„	„
Kontrollen der Sera (ohne Antigen).								
0,15	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	part.	kompl.
0,06	„	„	„	„	„	„	part.	„
0,03	„	„	„	„	„	„	kompl.	„

Tabelle X.

Komplementablenkung. Antigen Stamm III 0,05 (Kontrolle 0,1 Komplement). Hämolyse nach 24 Stunden.

Serum	Lorenz Jan. 09	Mustang 4. XI. 08	Mustang Jan. 09	Mustang 12. VI. 09	Kolle	Marius 2. I. 09	Marius 8. VI. 09	Neolog (Dys.-Serum) Jan. 09
0,1	θ	θ	θ	θ	θ	Spur	Spur	Spur
0,07	θ	θ	θ	θ	θ	part.	Spur	Spur
0,04	θ	θ	θ	θ	θ	„	part.	part.
0,02	Spur	θ	θ	θ	θ	„	„	„
0,01	„	θ	θ	θ	θ	part.	„	part.
0,007	Spur	θ	θ	θ	θ	f. kpl.	part.	f. kpl.
0,004	part.	Spur	Spur	Spur	Spur	„	f. kpl.	„
0,002	„	part.	part.	Spur	part.	„	„	kompl.
0,001	part.	„	„	part.	„	„	„	„
Kontrollen der Sera (ohne Antigen).								
0,2	θ	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	part.
0,14	Spur	part.	part.	part.	„	part.	part.	„
0,08	part.	part.	„	part.	part.	part.	part.	part.
0,04	part.	f. kpl.	part.	f. kpl.	part.	f. kpl.	f. kpl.	kompl.
0,02	kompl.	kompl.	f. kpl.	kompl.	f. kpl.	kompl.	kompl.	„
0,01	„	„	kompl.	„	„	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Um die Werte der drei Tabellen (VI, IX und XI) gut vergleichen zu können, stellen wir aus jeder die Reihenfolge der in Betracht kommenden Sera nach ihrem Hemmungsvermögen auf:

Diese ist für Antigen Neufeld: Mustang vom 22. IX. 08, Lorenz vom 20. X. 08, Mustang vom Jan. 09, Kolle, Mustang vom 12. VI. 09, Klara vom 19. VI. 07 (diese 2 Sera haben gleichen Titer), Meningokokken-Ser. II vom 26. II. 07, Ruppel, Marius vom 8. VI. 09 und Marius vom 2. I. 09 (lange vor der Immunisierung, also Normalserum).

Für Antigen VIII: Men.-Ser. II vom 26. II. 07, Lorenz vom 20. X. 08, Kolle, Klara vom 19. VI. 07, Ruppel, Mustang vom 22. IX. 08, Mustang vom 12. VI. 09, Marius vom 8. VI. 29.

Für Antigen III: Mustang vom 12. VI. 09, Mustang vom Jan. 09, Kolle (diese 2 Sera stehen gleich), Marius vom 8. VI. 09, Marius vom 2. I.

Sehen wir von dem stets an letzter Stelle befindlichen Serum Marius, das um diese Zeit noch gar kein Meningokokkenserum war, ab, so ergibt sich völlige Unregelmäßigkeit. Mit jedem Antigen erscheinen andere Sera (Aderlässe) als die wertvollsten. Der praktische Wert der Komplementablenkungsmethode kann danach wohl kaum mehr anerkannt werden. In der Tabelle, die Krumbein und Diehl geben, ist schon ein solches Verhalten zu erkennen, von den Autoren aber nicht beachtet worden. Da aber bei unserer Zusammenstellung die Ergebnisse von 3 verschiedenen Versuchen verglichen werden mußten, hielten wir es noch für angezeigt, auch die Resultate zu vergleichen, die in einer einzigen Versuchsanordnung bei gleichen Seris, aber mit verschiedenen Antigenen gewonnen wurden. Ein solcher Versuch ist schon in Tabelle VII enthalten, in vergrößertem Maßstabe bringen wir einen solchen in Tabelle XI.

In beiden Versuchen, wo wir aber nur je drei Sera heranzogen, ergab sich für alle Antigene eine ziemlich konstante Rangordnung der Sera, von dem unwirksamen, unechten Stamm VIII B natürlich abgesehen. Aber auch hierbei zeigten sich merkliche Differenzen in der Größe des Abstandes, wenn es auch nicht zur Umkehrung des Wertverhältnisses kam. Allerdings müssen wir hierbei in Erinnerung bringen, daß unsere Immunsera polyvalent dargestellt wurden. Das mag wohl der Grund sein, warum wir nicht noch auffälligere Unregelmäßigkeiten konstatieren mußten. Sehr bemerkenswert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.

Komplementablenkung. Hämolyse nach 24 Stunden.

Antigen	Serum	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001	0,00003
I 0,05	Mustang 22. IX. 08	θ	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.
	Mustang 12. VI. 09	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	„	„
	Men. II 26. II. 07	θ	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	„	„
IV 0,05	Mustang 22. IX. 08	θ	θ	θ	θ	part.	f. kpl.	f. kpl.	kmpl.
	Mustang 12. VI. 09	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	„
	Men. II 26. II. 07	θ	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	„	„
V 0,05	Mustang 22. IX. 08	θ	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.
	Mustang 12. VI. 09	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	„	„
	Men. II 26. II. 07	θ	θ	„	Spur	part.	„	„	„
VIII 0,05	Mustang 22. IX. 08	θ	θ	θ	Spur	Spur	part.	f. kpl.	f. kpl.
	Mustang 12. VI. 09	θ	Spur	Spur	part.	f. kpl.	f. kpl.	„	„
	Men. II 26. II. 07	θ	θ	θ	Spur	part.	„	kmpl.	kmpl.
Worb 0,05	Mustang 22. IX. 08	θ	θ	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.
	Mustang 12. VI. 09	θ	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	„	„
	Men. II 26. II. 07	θ	θ	θ	Spur	f. kpl.	„	„	„
VIII B 0,015	Mustang 22. IX. 08	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.
	Mustang 12. VI. 09	f. kpl.	kmpl.	„	„	„	„	„	„
	Men. II 26. II. 07	f. kpl.	„	„	„	„	„	„	„

Kontrollen

Sera (ohne Antigen)

Serum	0,15	0,06	0,02
Mustang 22. IX. 08	kmpl.	kmpl.	kmpl.
Mustang 12. VI. 09	„	„	„
Men. II 26. II. 07	„	„	„

Antigen (ohne Serum)

Stamm	0,2	0,1	0,05
I	part.	f. kpl.	kmpl.
IV	f. kpl.	„	„
V	part.	kmpl.	„
VIII	„	„	„
Worb	„	„	„

Stamm	0,04	0,03	0,02
VIII B	f. kpl.	kmpl.	kmpl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und für die praktische Anwendung zur Auswertung des Meningokokkenserums bedeutungsvoll scheint uns aber die aus unseren Versuchen im Gegensatz zu den Angaben von Krumbein und Schatiloff vielfach hervorgehende Tatsache, daß das Komplementablenkungsvermögen der Sera jahrelang erhalten bleibt. Unsere Untersuchungen haben auch für die Agglutinine und Bakteriotropine des Meningokokkenserums das gleiche gezeigt, so daß man vielleicht eine ziemlich lange anhaltende Stabilität der Antikörper im Meningokokkenserum überhaupt annehmen kann.

Anschließend möchten wir noch kurz auf die differentialdiagnostische Verwertbarkeit der Komplementablenkung durch Meningokokkenserum zur Identifizierung verdächtiger Kokken zu sprechen kommen. Diesbezüglich sei einerseits an das fast völlige Ausbleiben bei den unechten Stämmen hingewiesen, andererseits aber doch auch auf das gar nicht seltene Versagen echter Stämme (Tabelle V). Nur mit mehreren Seris oder bei wiederholter Prüfung refraktär bleibende Stämme dürften vielleicht differenziert werden. So haben wir auch unseren Micrococcus katarrhalis einmal neben Stamm Neufeld geprüft (Tabelle XII), und trotz gut ablenkender Sera (mit Stamm Neufeld) mit jenem keinerlei Hemmung beobachtet. Positive Resultate dürften demnach streng spezifisch sein.

Tabelle XII.
Komplementablenkung. Hämolyse nach 24 Stunden.

Antigen	Stamm Neufeld 0,1 (Kontrolle: 0,2 kompl.)			Micrococcus katarrhalis 0,1 (Kontrolle: 0,2 kompl.)		
Serum	Lorenz 19. IV. 09	Mustang 12. VI. 09	Neolog (Dysenter.-Serum) 8. VI. 09	Lorenz 19. IV. 09	Mustang 12. VI. 09	Neolog (Dysenter.-Serum) 8. VI. 09
0,1	θ	θ	kompl.	f. kompl.	kompl.	kompl.
0,07	θ	part.	„	„	„	„
0,04	θ	part.	„	kompl.	„	„
0,02	θ	f. kompl.	„	„	„	„
0,01	θ	kompl.	„	„	„	„
0,007	part.	„	„	„	„	„
0,004	kompl.	„	„	„	„	„
0,002	„	„	„	„	„	„
Kontrollen der Sera (ohne Antigen).						
0,14	kompl.	kompl.	kompl.	—	—	—
0,07	„	„	„	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. Versuche mit univalentem Kaninchenserum.

Von der Verwendung univalenter Kaninchensera erwarteten wir einerseits ein deutliches Hervortreten der Abhängigkeit der Komplementablenkung (wie auch der Agglutination) von den Eigenschaften des als Antigen benutzten Stammes, andererseits eine Aufklärung des eigentümlichen Befundes, daß unsere polyvalenten Pferdesera, die unter anderem auch mit den unechten Stämmen VIII B und X gewonnen waren, im Gegensatz zur nachweisbaren Agglutination, mit diesen Stämmen fast gar keine Ablenkung gaben. Wir immunisierten daher durch längere Zeit Kaninchen durch subkutane Injektion steigender Dosen lebender Kultur der einzelnen Stämme (bis 1 ganze Schrägagarkultur). Nach dreimaliger Injektion in einwöchentlichen Zwischenräumen wurde im Oktober 1909 ein Probeaderlaß gemacht und zur Komplementablenkung verarbeitet. Nach längerer, durch äußere Umstände bedingter Unterbrechung wurde die Immunisierung wieder aufgenommen. Da uns inzwischen der Stamm VIII B eingegangen war, und nur mehr je eines der beiden Tiere, die mit Stamm X und Stamm VIII B immunisiert worden waren, lebte, verwendeten wir in der 2. Periode das überlebende Tier von Stamm VIII B (Kaninchen 217) auch zur Immunisierung mit dem verwandten Stamm X. Ende Dezember 1909 wurde ein zweiter Aderlaß vorgenommen und wieder zur Komplementablenkung (und Agglutination) verwendet. Es waren immunisiert Kaninchen 313 und 375 mit Stamm VIII, Kaninchen 263 und 321 mit Stamm Neufeld, Kaninchen 217 und 51 mit Stamm VIII B, Kaninchen 249 und 290 (später auch 217) mit Stamm X. Die Werte des ersten Aderlasses zeigt Tabelle XIII, die des zweiten Tabelle XIV.

In Tabelle XIII fällt vor allem die große Verschiedenheit der beiden mit Stamm Neufeld ganz gleich behandelten Tiere auf. Während Serum 263 mit dem Eigenstamm bis 0,03, mit dem fremden echten Stamm VIII gar nicht hemmt, war das Serum 321 noch so gut wie unwirksam. Das mit Stamm VIII gewonnene Serum 375 aber wirkte deutlich mit beiden echten Stämmen, doch auch besser mit dem homologen. Mit den unechten Stämmen sind die Sera der echten unwirksam, umgekehrt waren aber die Sera, die mit den unechten Stämmen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIII.

Komplementablenkung.

Erster Aderlaß (Oktober 1909) der Immunkaninchen.

Hämolyse nach 24 Stunden.

Serum	Antigen	0,1	0,07	0,03	0,01	0,007	0,003	0,001
375 (VIII)	VIII 0,05	Spur	Spur	Spur	part.	part.	f. kompl.	kompl.
	Neufeld 0,1	θ	Spur	f. kompl.	kompl.	—	—	—
	X 0,05	kompl.	kompl.	—	—	—	—	—
321 (Neufeld)	VIII 0,05	f. kompl.	f. kompl.	kompl.	—	—	—	—
	Neufeld 0,1	kompl.	—	—	—	—	—	—
	X 0,05	„	—	—	—	—	—	—
263 (Neufeld)	VIII 0,05	kompl.	—	—	—	—	—	—
	Neufeld 0,1	Spur	Spur	Spur	f. kompl.	f. kompl.	kompl.	—
	VIII B 0,05	kompl.	—	—	—	—	—	—
217 (VIII B)	VIII 0,05	part.	f. kompl.	kompl.	—	—	—	—
	Neufeld 0,1	kompl.	—	—	—	—	—	—
	VIII B 0,05	part.	f. kompl.	f. kompl.	f. kompl.	kompl.	—	—
51 (VIII B)	VIII 0,05	Spur	f. kompl.	kompl.	—	—	—	—
	Neufeld 0,1	kompl.	—	—	—	—	—	—
	VIII B 0,05	„	—	—	—	—	—	—
290 (X)	VIII 0,05	f. kompl.	kompl.	—	—	—	—	—
	Neufeld 0,1	kompl.	—	—	—	—	—	—
	X 0,05	f. kompl.	f. kompl.	kompl.	—	—	—	—

Kontrollen

Sera (ohne Antigen)

Serum	0,2	0,1
375	kompl.	kompl.
321	„	„
263	„	„
217	„	„
51	„	„
290	„	„

Antigen (ohne Serum)

VIII	0,1 kompl.	0,05 kompl.
Neufeld	0,2 kompl.	0,1 kompl.
VIII B	0,1 kompl.	0,05 kompl.
X	0,1 kompl.	0,05 kompl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle XIV.

Komplementablenkung.

Zweiter Aderlaß der immunisierten Kaninchen. Hämolyse nach 24 Stunden.

Serum	Antigen	0,1	0,07	0,04	0,02	0,01	0,007	0,004	0,002	0,001
313 (VIII)	0,07 VIII	part.	part.	part.	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.
	0,07 Neufeld	Spur	„	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	„	„	„
	0,07 X	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	„	„	„	„	„
375 (VIII)	0,07 VIII	θ	θ	θ	θ	Spur	part.	kmpl.	kmpl.	kmpl.
	0,07 Neufeld	θ	Spur	Spur	part.	f. kpl.	kmpl.	„	„	„
	0,07 X	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	„	„	„	„
263 (Neufeld(	0,07 VIII	θ	θ	θ	θ	part.	part.	f. kpl.	f. kpl.	f. kpl.
	0,07 Neufeld	θ	θ	θ	θ	Spur	Spur	Spur	part.	„
	0,07 X	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.
321 (Neufeld)	0,07 VIII	θ	θ	θ	Spur	part.	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.
	0,07 Neufeld	θ	θ	θ	„	Spur	part.	„	„	„
	0,07 X	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	„	„	„
217 (X)	0,07 VIII	part.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.
	0,07 Neufeld	kmpl.	kmpl.	„	„	„	„	„	„	„
	0,07 X	part.	f. kpl.	„	„	„	„	„	„	„
290 (X)	0,07 VIII	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.	f. kpl.	kmpl.	kmpl.
	0,07 Neufeld	„	„	„	„	„	„	„	„	„
	0,07 X	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Kontrollen

Sera (ohne Antigen)

Serum	0,2	0,14	0,08
313	kmpl.	kmpl.	kmpl.
375	„	„	„
263	„	„	„
321	„	„	„
217	„	„	„
290	„	„	„

Antigen (ohne Serum)

Stamm	0,2	0,15	0,1
VIII	f. kpl.	f. kpl.	f. kpl.
Neufeld	„	„	„
X	„	„	„

Serum 290 u. 217 als Ambozeptor (1,0 H.-Bl. + Ser. + Komplement)

Serum	217	290
0,1	kmpl.	f. kpl.
0,05	„	„
0,03	„	part.
0,02	„	Spur
0,01	f. kpl.	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erzeugt waren, wenn auch wenig, so doch nachweisbar wirksam mit Antigenen aus echten Stämmen, im ganzen aber war ihre Wirkung minimal.

Die Resultate der Tabelle XIV stehen in gutem Einklang mit den früheren. Die Sera der echten Stämme haben insgesamt beträchtlich stärkere Wirksamkeit gewonnen. Allerdings waren die verwendeten Antigendosen etwas zu hoch, da die doppelte Menge selbst etwas hemmte. Stets ist der Hemmungstiter mit dem Antigen aus dem Eigenstamm höher (auch bei 321, mit Stamm VIII nämlich gibt 0,01 partielle, mit Neufeld nur Spur Lyse, wenn auch der Grenzwert gleich scheint). Das Antigen X war wieder mit allen Seris der echten Stämme, und einem der homologen Seren ganz unwirksam, mit Serum 217 gab es allerdings ganz geringe Hemmung, ebensostark wirkte jedoch dieses Serum mit Stamm VIII, ganz unwirksam war mit diesen beiden Seren Antigen Neufeld. Alle Resultate mit den Seris 217 und 290 sind jedoch deshalb nicht einwandfrei, da diese Sera sonderbarerweise sehr merklich hämolytisch für Hammelblut waren (für Serum 290 war der hämolytische Titer sogar 0,01). Diese Eigenschaft hat möglicherweise die sonst in höheren Dosen auftretende Ablenkung verhindert. Immerhin scheinen uns unsere Versuche den Beweis erbracht zu haben, daß die einzelnen Meningokokkenstämme Immunsera erzeugen, die nicht für alle Stämme in gleicher Weise wirksam, vielmehr bis zu einem gewissen Grade stammspezifisch sind oder entsprechend Ehrlichs Anschauung teilweise nur für die betreffenden Antigene Rezeptoren haben.

Sehr merkwürdig ist demgegenüber das Ergebnis der Agglutinationsprüfung des zweiten Aderlasses, das Tabelle XV zeigt (siehe p. 424).

Es hat nämlich den Anschein, als ob die Agglutinationswirkung dieser univalenten Sera nicht nur an sich von verschiedener Stärke wäre, sondern außerdem mit den einzelnen Stämmen, unabhängig von der Art der Herstellung des Serums, von der Agglutinabilität des betreffenden Stammes abhängige Werte ergäbe. So erweist sich der unechte Stamm X als recht gut agglutinabel, die Titer der echten Sera sind mit ihm sogar höher als mit dem homologen und echten, aber schlecht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XV.

Agglutination.

0,5 Bakterienaufschwemmung + 0,5 Serumverdünnung 12 Std. bei 37°.

Bakterienaufschwemmung: 5 ccm pro 48-stündiger Kultur von Stamm VIII, Neufeld und X.

Sera der mit lebenden Meningokokken immunisierten Kaninchen 313 und 375 (VIII), 263 und 321 (Neufeld), 217 und 290 (X).

Stamm	Verdünnung	313 (VIII)	375 (VIII)	Neufeld 263	Neufeld 321	217 (X)	290 (X)
VIII	1/20	deutl.	Spur	stark	f. Flocken	f. Flocken	f. Flocken
	1/50	f. Flocken	„	deutl.	Spur	Spur	f. Flocken
	1/100	Spur	θ	f. Flocken	θ	θ	Spur
	1/200	θ	θ	Spur	θ	θ	θ
Neufeld	1/20	Spur	Spur	deutl.	Spur	Spur	Spur
	1/50	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	1/100	—	—	—	—	—	—
	1/200	—	—	—	—	—	—
X	1/20	f. Flocken	f. Flocken	deutl.	Spur	Spur	deutl.
	1/50	f. Flocken	Spur	f. Flocken	„	„	„
	1/100	Spur	„	Spur	θ	θ	„
	1/200	„	θ	„	θ	θ	„

agglutinablen Stamm Neufeld. Auch die unechten Sera bewirkten im Gegensatz zur mangelnden Komplementablenkung deutliche Agglutination, besonders Serum 290 mit dem Eigenstamm. Das differente Verhalten der unechten Stämme den beiden Phänomenen der Agglutination und der Komplementbindung gegenüber scheint uns von größerem Interesse zu sein, da es für die Verschiedenheit der antigenen Substanzen dieser Vorgänge spricht.

Zusammenfassung.

Die mit einer größeren Anzahl von Meningokokken und Meningokokken-ähnlichen Stämmen durchgeführten Versuche mit polyvalenten Pferdeseris und univalenten Kaninchseris haben den von Kraus und Baecher gegenüber der Komplementablenkung wie auch der Agglutination und Bakteriotropinbestimmung als Wertmesser der Meningokokkensera eingenommenen Standpunkt bestätigt. Alle diese Phänomene erwiesen sich in hohem Grade von Eigenschaften der einzelnen in Verwendung kommenden Stämme abhängig. Wie mehr

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder weniger gut agglutinable Stämme scheint es auch mehr und minder als Bordet-Gengou'sches Antigen geeignete Stämme zu geben, wobei diese beiden Fähigkeiten nicht parallel gehen. Differentialdiagnostisch sind daher beide Phänomene bei negativem Befund auch mit mehreren Immunseris nicht unbedingt zu verwerten. Als Prüfungsmethode der Heilsera kommt trotz gelegentlichen Versagens infolge unbrauchbarer Stämme (mit zu starker Spontanphagocytose) die Bakteriotropinbestimmung nach Neufeld wohl in Betracht. Die Feststellung des komplementbindenden Titers jedoch kann, abgesehen von theoretischen Einwänden, als praktisch brauchbarer Maßstab kaum mehr anerkannt werden, da 1) die bei gleicher Kombination von Antigen und Serum in verschiedenen Versuchen erhaltenen absoluten Werte keineswegs stimmen, 2) das relative Wertverhältnis mehrerer Sera auch bei Anwendung des gleichen Antigenes in verschiedenen Versuchen nicht immer das gleiche bleibt, 3) das Wertverhältnis der Sera bei Verwendung verschiedener Antigene völlig inkonstant wird. Dementsprechend zeigt sich bei univalenten Seris eine merkliche Höherwertigkeit mit dem Antigen des Eigenstammes, was für eine Vielheit der in Betracht kommenden Antigenrezeptoren spricht. Weder die Fähigkeit der Stämme, bei der Immunisierung Agglutinine und Bordet-Gengousche Körper zu bilden, noch das Vorhandensein dieser beiden Substanzen im Serum geht Hand in Hand.

Literatur.

Kraus und Baecher, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 1909, p. 9.
Kraus und Doerr, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 1.
Hectoen, Journ. of Infect. Diseases, Bd. 2.
Baecher. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 56, 1907.
Neufeld, Med. Klinik, 1908.
Neufeld und Haendel, Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, 1908.
v. Lingelsheim, Deutsche med. Wochenschr., 1905.
Kolle und Wassermann, Orig.-Ber. über die 3. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 44.
Wassermann, Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 39.
Kolle, Verhandl. des XIV. Internat. Kongreß f. Hyg. u. Demographie.
Krumbein und Schatiloff, Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 23.
Krumbein und Diehl, Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern, 1908, Heft 2.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium Metschnikoffs am Pasteurschen Institut in Paris.]

Ueber bakterizide, hämolytische, komplement- und giftbindende Eigenschaften der lipoidartigen Bestandteile der Pyocyanase.

Von Dr. **Sakaye Ohkubo** (Tokio).

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Februar 1910.)

Daß verschiedene lipoide Körper bakterizide, hämolytische und giftneutralisierende Eigenschaften besitzen, wurde in den letzten Jahren von verschiedenen Autoren, so namentlich von Landsteiner und seinen Mitarbeitern, bewiesen. Neuerdings nahmen auch wir Gelegenheit, die lipoidartigen Bestandteile der Pyocyanase zu studieren und wollen nun über die Ergebnisse unserer Untersuchungen in aller Kürze berichten.

Gewinnung der lipoidartigen Stoffe der Pyocyanase.

Um die fettähnlichen Körper der Pyocyanase möglichst rein darzustellen, wurde zunächst die Lingnersche Pyocyanase mittelst absoluten Alkohols, dann Aethers extrahiert; d. h. es wurde der Originalpyocyanase im Verhältnis 1 : 10 chemisch reiner absoluter Alkohol zugefügt, wobei die alkoholunlöslichen Bestandteile der Pyocyanase in flockigen Massen zur Ausscheidung gelangten. Nachdem die Mischung über Nacht (etwa 15 Stunden) bei Zimmertemperatur gestanden war, wurde der Alkohol von der Pyocyanase durch energisches Abzentrifugieren getrennt und im Vakuum verdunstet. Der dunkelgrünliche Rückstand wurde mit gleichen Mengen von ebenfalls chemisch reinem Aether (Éther absolu destillé sur le sodium) behandelt, kräftig geschüttelt, über Nacht (ca. 15 Stunden) bei Zimmertemperatur extrahiert, ausgeschleudert und wieder durch Abdampfung im Vakuum gewonnen. Der so erhaltene schwach olivenfarbige Rückstand wurde in steriler physiologischer NaCl-Lösung — bei den bakteriziden Versuchen

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

mit 2 Proz. Zusatz von Bouillon — sorgfältig emulgiert, so daß die entstandene Lösung der Menge der Originalpyocyanase entsprach. Die fast farblosen Abdampfungsrückstände aus gleichen Mengen desselben Alkohols und Aethers, sowie der Extraktrest der Pyocyanase wurden ebenfalls in physiologischer NaCl-Lösung entsprechend aufgeschwemmt und als Kontrolle verwendet.

I. Bakterizide Eigenschaften des Pyocyanaselipoides.

H. Raubitschek und V. Russ[1]) konnten nachweisen, daß die bakterizide Wirkung der Pyocyanase auf dem Vorhandensein eines Körpers, der sich durch hohe Koktostabilität und durch eine Löslichkeit in Alkohol, Aether, Benzol, Benzin, Aceton, Petroläther und Chloroform auszeichnet, beruht. Demgegenüber behaupteten R. Emmerich und O. Löw[2]) auf Grund ihrer Nachprüfung, daß die von Raubitschek und Russ beobachteten bakteriziden Wirkungen der Pyocyanaseextrakte mittels Aether, Chloroform etc. nicht auf bakterizide Stoffe zurückzuführen sei, die aus der Pyocyanase extrahiert wurden, sondern diese Bakterizidie sei durch Körper veranlaßt, welche beim Verdampfen des Aethers, Chloroforms etc. gebildet werden.

Die von uns unter möglichster Vermeidung der von Emmerich und Löw betonten Fehlerquellen angestellten Versuche gestalteten sich folgendermaßen.

I. Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,55 ccm; davon 0,05 ccm 10-stündiger sporenfreier Milzbrandbacillen-Aufschwemmung in 0,85-proz. NaCl-Lösung mit 2-proz. Zusatz von Bouillon, welche auch die Ausfällungsflüssigkeit bildete. Die Aussaat geschah mittelst einer Oese von 0,0125 ccm Fassungsvermögen auf Agarplatten.

---

1) H. Raubitschek und V. Russ, Zur Kenntnis der bakteriziden Eigenschaften der Pyocyanase, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 8, p. 250, und Bemerkungen zu dem vorstehenden Artikel von Emmerich und Löw. Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 23, p. 842.

2) R. Emmerich und Löw, Sind die bakteriziden Bestandteile der Pyocyanase Lipoid? Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 23, p. 839.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Menge der Pyocyanaselipoid-Emulsion	Zahl der Kolonien			
	sofort	nach 1h	nach 3h	nach 7h
0,5 ccm	θ	θ	θ	θ
0,3 „	θ	θ	θ	θ
0,2 „	θ	θ	θ	θ
0,1 „	θ	θ	θ	θ
0,05 „	θ	θ	θ	θ
0,03 „	θ	θ	θ	θ
0,025 „	2	θ	θ	θ
0,020 „	8	θ	θ	θ
0,01 „	17	θ	θ	θ

Zur Kontrolle.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Zahl der Kolonien			
	sofort	nach 1h	nach 3h	nach 7h
0,5 ccm Originalpyocyanase	θ	θ	θ	θ
0,05 „ „	45	θ	θ	θ
0,04 „ „	49	θ	θ	θ
0,03 „ „	52	θ	θ	θ
0,025 „ „	47	31	59	zahlreich
0,02 „ „	54	65	139	„
0,5 „ Extraktrest der Pyocan.	51	40	112	„
0,5 „ Rückstand des reinen Alkohols und Aethers	48	52	109	„
0,5 „ Rückstand des im Handel vorkomm. Alkoh. u. Aeth.	4	θ	θ	θ
0,5 „ 2% Bouillon-NaCl-Lösg.	54	65	142	zahlreich

In diesem Versuch tritt nun schlagend hervor, daß das Alkohol-Aetherextrakt der Pyocyanase dem Milzbrandbacillus gegenüber starke bakterizide Eigenschaften, und zwar an derselben die Originalpyocyanase weit übertrifft. 0,01 ccm von der Extraktemulsion war also imstande, binnen einer Stunde ca. 2000 Anthraxbacillen zu vernichten, während die Originalpyocanase erst mit 0,025 ccm dieselbe Wirkung entfaltete. Der Extraktrest der Pyocyanase, sowie die Rückstände aus dem reinen Alkohol und Aether waren vollkommen wirkungslos. Daß gewöhnliche, im Handel vorkommende Alkohole und Aether aber starke anthrakozide Substanzen liefern können, beweist der obige Kontrollversuch.

Wie sich nun das Pyocyanaselipoid, in NaCl-Lösung oder in eiweißhaltiger Lösung emulgiert, gegenüber der Hitze verhielt, geht aus folgendem Versuch hervor.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Versuch.

Das Alkoholätherextrakt der Pyocyanase wurde im entsprechenden Quantum einer 2-proz. Bouillon-NaCl-Lösung bezw. einer 2-proz. 65° Kaninchenserum-NaCl-Lösung emulgiert und bei 70° eine Stunde lang erhitzt. Der bakterizide Versuch wurde genau ebenso wie der vorige angestellt.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Zahl der Kolonien			
	sofort	nach 1h	nach 3h	nach 7h
0,5 ccm Pyoc.-Lip. in NaCl-Lös.	θ	θ	θ	θ
0,05 „ „ „ „ „	θ	θ	θ	θ
0,04 „ „ „ „ „	θ	θ	θ	θ
0,03 „ „ „ „ „	7	θ	θ	θ
0,025 „ „ „ „ „	6	θ	θ	θ
0,02 „ „ „ „ „	11	θ	θ	θ
0,01 „ „ „ „ „	22	2	θ	θ
0,5 ccm Pyocyan.-Lip. in 65° Kaninchenserum	42	45	78	zahlreich
0,05 ccm Pyocyan.-Lip. in 65° Kaninchenserum	47	55	81	„
0,5 ccm 2-proz. Bouillon NaCl-Lösung	49	60	94	„

Dieser Versuch ergibt, daß das Pyocyanaselipoid, in NaCl-Lösung emulgiert, hitzbeständig ist, daß es aber in einer eiweißhaltigen Lösung diese Eigenschaft einbüßt, entsprechend den Angaben, welche K. Landsteiner und H. Ehrlich[1]) über die lipoiden Organbestandteile, H. Raubitschek und V. Russ[2]) über Pyocyanaselipoid gemacht haben.

II. Hämolytische und komplementbindende Eigenschaften des Pyocyanaselipoides.

K. Landsteiner und H. Raubitschek[3]) teilten mit, daß aus der Kulturfiltration des Bacillus pyocyaneus durch Alkohol und Aether ein Blutkörperchen lösendes Lipoid gewonnen werden kann. Nach Bermbach[4]) hat die Lingnersche Pyocyanase mehr oder minder hämolytische Wirkung.

1) K. Landsteiner und H. Ehrlich, Ueber bakterizide Wirkungen von Lipoiden und ihre Beziehung zur Komplementwirkung. Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 1908, p. 247.

2) l. c.

3) K. Landsteiner und H. Raubitschek, Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 1908.

4) P. Bermbach, Ueber Pyocyanase. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 1908, p. 355.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es schien uns interessant, den hämolytischen Versuch mit dem Alkoholätherextrakt der Pyocyanase anzustellen.

I. Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 3 ccm; davon je 1 ccm 5-proz. Aufschwemmung von Hammelerythrocyten in 0,85-proz. NaCl-Lösung. Dazu wurden abgestufte Mengen der Pyocyanaseextraktemulsion in 0,85-proz. NaCl-Lösung zugesetzt, welche auch zur Auffüllung verwendet wurde. Die Proben wurden dann 2 Stunden bei 38° gehalten.

Pyocyanaselipoid-emulsion	0,85-proz. NaCl-Lösung	5-proz. Hammelerythrocytenemulsion	Hämolyse nach 2h
0,1 ccm	1,9 ccm	1,0 ccm	+
0,2 „	1,8 „	1,0 „	++
0,4 „	1,6 „	1,0 „	+++
0,6 „	1,4 „	1,0 „	+++
0,8 „	1,2 „	1,0 „	+++
Kontrolle —	2,0 ccm	1,0 ccm	θ

Die auf 100° C erhitzte Extraktemulsion der Pyocyanase ergab auch dasselbe Resultat.

Es mußte nun gefragt werden, wie sich wohl das Pyocyanaselipoid im hämolytischen System zu dem Komplement verhält, d. h. ob es etwa das Komplement an sich reißt und so die Hämolyse hemmt, oder nicht.

II. Versuch.

Zu je 0,1 ccm frischen Meerschweinchenserums wurden zunächst abgestufte Mengen der Pyocyanaselipoidemulsion in 0,85-proz. NaCl-Lösung zugesetzt, und das Gemisch wurde eine Stunde bei 38° C stehen gelassen. Alsdann wurden je 0,1 ccm Hammelblutantiserum vom Kaninchen und je 1,0 ccm einer 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung hinzugefügt. Jedes Röhrchen wurde mit 0,85-proz. NaCl-Lösung bis auf 3 ccm gefüllt. Die Beobachtung wurde 2 Stunden bei 38° C ausgeführt.

Meerschweinchen-serum	Pyocyanase-lipoid-emulsion	0,85-proz. NaCl-Lösung	Hammel-blutanti-serum	5-proz. Hammel-blut-emulsion	Hämolyse nach 2h
0,1 ccm	0,1 ccm } 1/10	1,7 ccm	0,1 ccm	1,0 ccm	+++
0,1 „	0,5 „ } 1/10	1,3 „	0,1 „	1,0 „	+++
0,1 „	0,1 „	1,7 „	0,1 „	1,0 „	+++
0,1 „	0,2 „	1,6 „	0,1 „	1,0 „	++
0,1 „	0,4 „	1,4 „	0,1 „	1,0 „	++
0,1 „	0,6 „	1,2 „	0,1 „	1,0 „	+
0,1 „	0,8 „	1,0 „	0,1 „	1,0 „	θ
Kontrolle 0,1 ccm	—	1,8 ccm	0,1 ccm	1,0 „	+++
„ —	—	2,0 „	—	1,0 „	θ

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieser Versuch zeigt also, daß das Pyocyanaselipoid das Komplement an sich reißen kann und dadurch die Blutkörperchen vor Hämolyse zu schützen vermag. Ein weiterer Versuch soll nun zeigen, bis zu welchem Grade die Bindung des Komplementes durch das Pyocyanaselipoid stattfindet.

III. Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 3 ccm; davon je 0,8 ccm Pyocyanaselipoidemulsion, zu der abgestufte Mengen frischen Meerschweinchenserums zugesetzt wurde. Die übrige Versuchsordnung war dieselbe wie beim II. Versuche.

Pyocyanaselipoidemulsion	Meerschweinchenserum	0,85-proz. NaCl-Lösung	Hammelblutantiserum	5-proz. Hammelblutemulsion	Hämolyse nach 2h
0,8 ccm	0,1 ccm	1,0 ccm	0,1 ccm	1,0 ccm	θ
0,8 „	0,2 „	0,9 „	0,1 „	1,0 „	θ
0,8 „	0,4 „	0,7 „	0,1 „	1,0 „	θ
0,8 „	0,5 „	0,6 „	0,1 „	1,0 „	+
0,8 „	0,6 „	0,5 „	0,1 „	1,0 „	++
0,8 „	0,8 „	0,3 „	0,1 „	1,0 „	+++
0,8 „	1,0 „	0,1 „	0,1 „	1,0 „	+++
Kontrolle 0,8 ccm	—	1,2 ccm	—	1,0 ccm	+++
—	0,1 ccm	1,8 „	0,1 ccm	1,0 „	+++
—	—	2,0 „	—	1,0 „	θ

Die Tabelle zeigt, daß 0,8 ccm der Pyocyanaselipoidemulsion bis 0,4 ccm des Komplementes vollständig zu binden vermögen. Aus den letzten beiden Versuchen geht auch hervor, daß die hämolytische Wirkung des Pyocyanaselipoides selbst durch die Anwesenheit der etlichen Mengen des Serums aufgehoben wird.

III. Entgiftende Eigenschaften des Pyocyanaselipoides.

R. Emmerich[1]) wies darauf hin, daß man mit Diphtheriegift tödlich vergiftete Meerschweinchen durch subkutane Injektion der Pyocyanase retten kann. Aus der Tatsache ent-

1) R. Emmerich, Die Pyocyanase als Prophylaktikum und Heilmittel bei bestimmten Infektionskrankheiten. Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 45, p. 2217.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wickelte dieser Autor den Gedanken, daß durch die Pyocyanase ein chemischer Körper in den Organismus eingeführt werde, welcher sich mit dem Diphtheriegift zu einer ungiftigen Verbindung vereinigt, entsprechend dem Vorgang bei der Einführung von Heilserum in den Organismus.

Wir haben diesen Versuch sowohl mit der Originalpyocyanase als auch mit dem Alkoholätherextrakt derselben nachgeprüft, indem wir je zwei etwa 300 g schwere Meerschweinchen durch subkutane Injektion von Diphtherietoxin (D. L. M. 0,004 ccm) tödlich vergifteten, dem einen der beiden Tiere aber täglich 0,5 ccm Pyocyanaselösung (nach der Angabe von Emmerich) resp. Pyocyanaselipoidemulsion injizierten. Dieser Versuch hat aber kein erfreuliches Resultat gehabt. Die mit Pyocyanase resp. Pyocyanaselipoid behandelten Meerschweinchen erlagen der Vergiftung genau wie die Kontrolltiere. Nun gingen wir daran, zu sehen, ob die Pyocyanase bezw. Pyocyanaselipoidemulsion in vitro Diphtherietoxin bindet und dadurch entgiftend wirkt oder nicht. Zu den Versuchen wurde ein Diphtherietoxin gebraucht, dessen Dosis letalis minima 0,004 ccm betrug. Als Versuchstiere wurden 250—300 g schwere Meerschweinchen benutzt. Zur Bestimmung der engiftenden Wirkung der Pyocyanase resp. Pyocyanaselipoidemulsion wurde die einfache oder mehrfache tödliche Giftdosis verwendet. Das Gift wurde also mit abgestuften Mengen der Pyocyanase bezw. Pyocyanaselipoidemulsion im Reagenzglas gemischt, unter mehrmaliger Umschüttelung 3 Stunden bei 38° C stehen gelassen und dann das Gemisch, das mit 0,85-proz. NaCl-Lösung bis auf 4 ccm ergänzt worden war, unter die Bauchdecke eingespritzt.

I. Versuch.

Nummer der Versuchstiere	Menge des Diphtherietoxins	Menge der Pyocyanase	Resultat
24	0,004 ccm	1,0 ccm	lebt
25	0,004 „	0,5 „	„
26	0,004 „	0,25 „	„
27	0,004 „	0,1 „	Tod nach 50 Stunden
Kontrolle 28	0,004 ccm	—	Tod nach 48 Stunden
„ 29	—	1,0 ccm	lebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Versuch.

Nummer der Versuchstiere	Menge des Diphtherietoxins	Menge der Pyocyanase	Resultat
30	0,02 ccm	1,0 ccm	Tod nach 47 Stunden
31	0,02 „	0,5 „	„ „ 40 „
32	0,02 „	0,25 „	„ „ 40 „
33	0,02 „	0,1 „	„ „ 25 „
Kontrolle 34	0,02 ccm	—	Tod nach 24 Stunden

Die Originalpyocyanase besitzt also, wenn auch schwach, so doch erkennbar entgiftende Eigenschaften, welche sich dadurch kennzeichneten, daß 0,5 ccm derselben die einfache tödliche Giftdosis vollständig neutralisierten. Bei der mehrfachen Giftdosis war sie zwar nicht mehr imstande, die Tiere vor dem Tode zu retten, sie konnte aber deutlich Verzögerung des letalen Ausganges herbeiführen.

Versuche mit der Pyocyanaselipoidemulsion ergaben folgendes:

III. Versuch.

Nummer der Versuchstiere	Menge des Diphtherietoxins	Menge der Pyocyanase-lipoidemulsion	Resultat
35	0,004 ccm	1,0 ccm	lebt
36	0,004 „	0,5 „	„
37	0,004 „	0,25 „	„
38	0,004 „	0,1 „	„
39	0,004 „	0,05 „	Tod nach 64 Stunden
40	0,004 „	—	„ „ 50 „
Kontrolle 41	—	1,0 ccm	lebt
„ 42	0,004 ccm	1,0 Extraktrest der Pyocyanase	Tod nach 52 Stunden

IV. Versuch.

Nummer der Versuchstiere	Menge des Diphtherietoxins	Menge der Pyocyanase-lipoidemulsion	Resultat
43	0,02 ccm	1,0 ccm	lebt
44	0,02 „	0,5 „	„
45	0,02 „	0,25 „	Tod nach 29 Stunden
46	0,02 „	0,1 „	„ „ 32 „
Kontrolle 47	0,02 ccm	—	Tod nach 30 Stunden

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Ein mit der auf 100° C erhitzten Pyocyanaselipoidemulsion angestellter Versuch fiel folgendermaßen aus.

V. Versuch.

Nummer der Versuchstiere	Menge des Diphtherietoxins	Menge der Pyocyanase-lipoidemulsion	Resultat
48	0,004 ccm	1,0 ccm	lebt
49	0,004 „	0,5 „	„
50	0,004 „	0,25 „	„
51	0,004 „	0,1 „	Tod nach ca. 52 Std.
Kontrolle 52	0,004 ccm	—	Tod nach 58 Stunden

Wie wir aus diesen drei Versuchsreihen ersehen, besitzt normale als auch erhitzte Pyocyanaselipoidemulsion sicherlich giftbindende Wirkung. Der Extraktrest der Pyocyanase zeigte dagegen keine entgiftenden Eigenschaften. Es läßt sich also daraus schließen, daß die entgiftende Wirkung der Pyocyanase ausschließlich auf die lipoidartigen Bestandteile derselben zurückzuführen ist.

Zum Vergleich wurde noch ein Versuch mit Tetanustoxin [1]) ausgeführt, dessen sicher tödliche Dosis bei Mäusen von 15—20 g Gewicht 0,002 ccm war. Die ganze Prozedur

VI. Versuch.

Nummer der Versuchstiere	Menge des Tetanustoxins	Menge der Pyocyanase-lipoidemulsion	Resultat
61	0,002 ccm	1,0 ccm	lebt
62	0,002 „	0,5 „	„
63	0,002 „	0,25 „	„
64	0,002 „	0,1 „	Tod n. 5 Tagen, Tetanus
65	0,002 „	0,05 „	„ „ 49 Std. „
Kontrolle 66	0,002 ccm	1,0 ccm Extraktrest der Pyocyanase	Tod n. 48 Std., Tetanus
„ 67	0,002 „	—	„ „ 36 „ „
„ 68	—	1,0 ccm Pyocyanase-lipoidemulsion	lebt

1) K. Landsteiner und v. Eisler, Ueber Agglutinin- und Lysinwirkung. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 39, 1905, p. 309. — K. Landsteiner und Botteri, Ueber Verbindungen von Tetanustoxin mit Lipoiden. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 42, 1906, p. 562.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

des Versuches war dieselbe wie bei dem unter Anwendung von Diphtherietoxin; nur mit dem Unterschied, daß das Tetanustoxin-Extraktgemisch am Rücken unter die Haut injiziert wurde (siehe VI. Versuch).

Aus diesem Versuche geht also deutlich hervor, daß das Pyocyanaselipoid imstande war, auch das Tetanustoxin zu entgiften, während der Extraktrest der Pyocyanase dieser Wirkung vollkommen entbehrte.

Zusammenfassung.

1) Die bakteriziden Eigenschaften der Pyocyanase beruhen auf dem Alkoholäther-löslichen, möglicherweise lipoiden Körper.

2) Dieser Körper besitzt hämolytische Wirkung.

3) Er ist auch imstande, Komplement zu binden und dadurch Blutkörperchen vor der durch einen spezifischen Ambozeptor entstehenden Hämolyse zu schützen.

4) Er wirkt deutlich in vitro entgiftend gegenüber dem Diphtherie- und Tetanustoxin.

5) Der fragliche Körper ist thermostabil, bekommt aber in eiweißhaltiger Lösung thermolabilen Charakter.

Zum Schluß gestatte ich mir, Herrn Prof. Metschnikoff und Herrn Dr. Levaditi für die freundlichst gewährte Unterstützung bei Anfertigung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus der Universitätskinderklinik zu Kyoto (Direktor: Prof. Dr. I. Hirai).]

Ueber die Komplementbindungsreaktion bei der Schistosomum-Krankheit in Japan.

Von Dr. **Misao Yoshimoto,**
Assistent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Februar 1910.)

Es gibt eine in einigen Ortschaften Japans (in den Provinzen Hiroshima, Okayama, Yamanashi, Saga) und in anderen Teilen Ostasiens (Philippinen, Kanton) endemisch vorkommende Krankheit, welche durch ein Saugwürmchen, Schistosomum japonicum, hervorgerufen wird. Seine Pathologie und Aetiologie ist in der letzten Zeit viel studiert worden, nämlich in Japan von Fujinami (1), Kasai (2), Katsurada (3), Tsuchiya (4), Ogawa (5), Yoshida (6), Kurimoto (7) u. a., in anderen Ländern von Catto (8), Woolley (9). Schistosomum japonicum, welches zuerst von Fujinami beim Menschen und auch von Katsurada bei der Katze entdeckt wurde, ist der Bilharzia verwandt, lebt hauptsächlich in der Pfortader und führt allmählich zu einer schweren Ernährungsstörung mit Anschwellung und nachfolgender Schrumpfung der Leber, blutig-schleimigen diarrhoischen Stühlen, in welchen Eier von Saugwürmchen gefunden werden, ferner Milzschwellung und Ascites.

Nachdem von mehreren Forschern bei einer Reihe von Infektionskrankheiten, sowohl mit bekanntem als auch mit unbekanntem Erreger, Versuche über die Komplementbindungsreaktion angestellt wurden, war es in theoretischer wie in praktischer Hinsicht sehr interessant, auch bei dieser Krankheit festzustellen, ob in dem Serum des Kranken eine Substanz auftreten könne, die sich durch Komplementbindung nachweisen läßt, wenn das Saugwürmchenextrakt als Antigen angewandt wird.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Die gewonnenen Ergebnisse meiner diesbezüglichen Versuche scheinen mir einer kurzen Mitteilung wert. Obwohl die Untersuchung auf eine geringe Zahl von Fällen sich beschränkte, so fiel doch die Reaktion in allen Fällen der Schistosomum-Krankheit positiv aus, während bei Leuten mit anderen Krankheiten und bei gesunden Individuen negative Resultate zu verzeichnen waren.

Was die Methodik meiner Versuche betrifft, so wandte ich die von Dr. K. Otani und Dr. O. Oho angegebene Modifikation des Wassermannschen Verfahrens zur Syphilisdiagnose an:

Als Antigen benutzte ich ein alkoholisches Extrakt von Schistosomumwürmchen, die bei der Sektion eines kranken Kalbes gewonnen wurden. Alkoholische Extrakte aus Leber und aus geschwollenen retroperitonealen Lymphdrüsen erwiesen sich als ungeeignet zum Antigen. Ich extrahierte fein zerriebene Schistosomumwürmchen (Weibchen und Männchen fast in gleicher Anzahl) mit der 20-fachen Menge absoluten Alkohols 24 Stunden lang, zentrifugierte dann klar. Das klare, gelbliche Zentrifugat diente als Stammlösung des Antigens, welche in einer gut verschlossenen Flasche im Eisschrank aufbewahrt wurde. Vor dem Gebrauch wurde es mit 0,85-proz. Kochsalzlösung im Verhältnis 1:4 verdünnt. Später benutzte ich als Antigen ein Extrakt, das ausschließlich aus Männchen zubereitet wurde. Dieses Extrakt wirkte nur ungefähr halb so stark als das vorige, was vielleicht dadurch bedingt sei, daß gewisse Substanzen im Weibchen in größerer Menge als im Männchen enthalten sind. Im Laufe meiner Versuche überzeugte ich mich übrigens, daß die Extrakte für 2 Monate im Eisschrank ihre Wirksamkeit beibehalten.

Als Antiserum diente das durch Aderlaß oder Blasenpflaster gewonnene Serum des Untersuchten; es wurde $^1/_2$ Stunde bei 56° C inaktiviert und unverdünnt gebraucht.

Als Komplement benutzte ich frisch entnommenes Meerschweinchenserum, welches vor dem Gebrauch mit 0,85-proz. Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt wurde.

Als hämolytischer Ambozeptor diente das inaktivierte Serum des Kaninchens, das im Intervall von 7 Tagen 3—4 intravenöse Injektionen von 5 ccm einer 5-proz. Ziegenblutkörperchenaufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung erhielt; beim Gebrauch im Verhältnis 1:2,5 verdünnt.

Die Erythrocyten wurden von einer Ziege genommen, mit 0,85-proz. Kochsalzlösung mehrmals gewaschen und davon eine 2,5-proz. Aufschwemmung hergestellt.

Nach Verteilung von 0,2—0,4 ccm der Antigenverdünnung (1:4) in die einzelnen sterilisierten Versuchsröhrchen wurde das Serum des zu untersuchenden in Dosen von 0,2 ccm zugesetzt. Nach Zusatz von je 0,2 ccm der

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

frischen Komplementverdünnung (1:10) wurden die Röhrchen gut geschüttelt, für 1 Stunde in dem Brutschrank bei 37° C belassen, hierauf je 0,2 ccm der Hämolysinverdünnung (1:2,5) und je 1 ccm einer 2,5-proz. Lösung gewaschener Ziegenblutkörperchen zugefügt. Sämtliche Röhrchen wurden wieder in den Brutschrank für 2 Stunden gebracht, sodann wurden sie an kühlem Ort bis zum nächsten Tage stehen gelassen, und das Resultat abgelesen.

Das Antigen wurde in den Mengen von 0,1 bis 0,4 angewandt, und zwar anfangs in der Menge von 0,4 ccm, später von 0,2 ccm. Die Antigenmenge richtet sich nach der bei jedem Versuch erhobenen Auswertung, die vorgenommen wurde, um Selbsthemmung auszuschließen. Sie schwankte im Laufe von 2 Monaten zwischen 0,6 und 0,4 ccm von im Verhältnis 1 : 4 verdünnter Stammlösung (die selbsthemmende Kraft des Antigens nahm anfangs im Laufe von 3 Tagen plötzlich zu, blieb dann fast unverändert).

Als Kontrolle wurden bei den meisten Versuchsgruppen luetische Seren, die immer mit einem luetischen Leberextrakt eine positive Reaktion gaben, sowie Seren der anderweitig Erkrankten und Gesunder herangezogen und in gleicher Weise untersucht.

Da eine Reihe von Krankheiten, wie Frambösie, Lepra, Trypanosomenerkrankung, Scharlach, Rekurrenserkrankung mehr oder weniger häufig eine positive Reaktion mit dem luetischen Leberextrakt gibt, untersuchte ich auch als Kontrolle fast jedes Serum gleichzeitig mit einem alkoholischen luetischen Leberextrakt. Auch führte ich neben jeder Probe Kontrollversuche aus, um festzustellen: 1) ob das Serum bei der gebrauchten Dosis nicht schon von selbst das Komplement ablenkte, 2) ob auch nicht das Antigen die Hämolyse hinderte, 3) ob der hämolytische Ambozeptor imstande war, zusammen mit dem Komplement eine vollständige Hämolyse zu bewirken.

Fallen eine oder mehrere von 5 Substanzen aus, wie bei den Kontrollen, so setzte ich an deren Stelle entsprechende Menge von 0,85-proz. Kochsalzlösung hinzu.

Die von mir erhobenen Befunde sind der Uebersicht halber in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

No.	Name	Alter und Geschlecht	Antigen (Würmchenextrakt) 1 : 4	Antigen (luetischer Leberextrakt) 1 : 4					Resultat	Bemerkungen
1	Y. U.	14-jähr. Knabe	0,4 .	. 0,2	Antiserum (Serum der Untersuchten) je 0,2 ccm	Komplement (1 : 10) je 0,2 ccm	Hämolytischer Ambozeptor (1 : 3) je 0,2 ccm	Erythrocyten (2,5 Proz.) je 1,0 ccm	Hemmung Lyse	Schistosomiasis
2	M. S.	15-jähr. Mädchen	0,4 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
3	M. Y.	27-jähr. Mann	0,4 .	. 0,2					Lyse „	gesund
4	M. O.	13-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Lyse „	gesund
5	M. S.	15-jähr. Mädchen	0,2 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
6	Y. U.	14-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
7	U. M.	43-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
8	A. F.	39-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					inkomplette Lyse Lyse	gesund
9	S. Y.	12-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					inkomplette Lyse Lyse	progressive Muskelatrophie
10	H. O.	13-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					inkomplette Lyse Lyse	Epilepsie
11	T. H.	15-jähr. Mädchen	0,2 .	. 0,2					Lyse „	Beriberi
12	M. S.	58-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					inkpl. Hemmung Lyse	Schistosomiasis
13	M. K.	14-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Lyse „	Infantilismus
14	E. Y.	24-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					Lyse „	gesund
15	T. G.	14-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Lyse „	Skrofulose
16	H. I.	15-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Lyse „	gesund
17	Y. U.	14-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
18	T. Y.	24-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse inkpl. Hemmung	Syphilis
19	I. D.	23-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					inkomplette Lyse Hemmung	Syphilis
20	N. K.	21-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Name	Alter und Geschlecht	Antigen (Würmchenextrakt) 1 : 4	Antigen (luetischer Leberextrakt) 1 : 4					Resultat	Bemerkungen
21	Y. U.	14-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2	Antiserum (Serum der Untersuchten) je 0,2 ccm	Komplement (1 : 10) je 0,2 ccm	Hämolytischer Ambozeptor (1 : 3) je 0,2 ccm	Erythrocyten (2,5 Proz. je 1,0 ccm	Hemmung Lyse	Schistosomiasis
22	H. I.	15-jähr. Knabe	0,2 .	. 0,2					Lyse „	gesund
23	H. G.	12-jähr. Mädchen	0,2 .	. 0,2					Lyse „	gesund
24	E. K.	3-monat. Mädchen	0,2 .	. 0,2					Hemmung „	Syphilis
25	E. O.	30-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
26	N. K.	21-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
27	O. K.	31-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					Lyse „	gesund
28	K. N.	20-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
29	K. B.	23-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
30	K. I.	25-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
31	H. I.	13-jähr. Mädchen	0,2 .	. 0,2					inkomplette Lyse Hemmung	Syphilis
32	H. A.	18-jähr. Mädchen	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
33	K. T.	30-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
34	K. N.	20-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis
35	E. Y.	24-jähr. Frau	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
36	N. J.	20-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
37	E. T.	41-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
38	N. S.	34-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
39	T. I.	32-jähr. Mann	0,2 .	. 0,2					Lyse Hemmung	Syphilis
40	K. N.	20-jähr. Mann	0,3 .	. 0,2					Hemmung Lyse	Schistosomiasis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Name	Alter und Geschlecht	Antigen (Würmchenextrakt) 1 : 4	Antigen (luetischer Leberextrakt) 1 : 4					Resultat	Bemerkungen
41	T. N.	47-jähr. Mann	0,3	.	Antiserum (Serum der Untersuchten) je 0,2 ccm	Komplement (1 : 10) je 0,2 ccm	Hämolytischer Ambozeptor (1 : 3) je 0,2 ccm	Erythrocyten (2,5 Proz.) 1,0 ccm	Lyse	gesund
			.	0,2					„	
42	I. S.	30-jähr. Mann	0,3	.					Lyse	Verdacht auf Syphilis
			.	0,2					„	
43	O. F.	23-jähr. Frau	0,3	.					Lyse	Verdacht auf Syphilis
			.	0,2					„	
44	K. K.	32-jähr. Mann	0,3	.					Lyse	Syphilis
			.	0,2					Hemmung	
45	Y. M.	44-jähr. Mann	0,3	.					Hemmung	Syphilis
			.	0,2					„	
46	N. K.	29-jähr. Mann	0,3	.					Hemmung	Syphilis
			.	0,2					„	
47	H. N.	42-jähr. Mann	0,3	.					Lyse	Verdacht auf Syphilis
			.	0,2					„	
48	M. S.	31-jähr. Mann	0,3	.					Lyse	Verdacht auf Syphilis
			.	0,2					„	
49	M. D.	34-jähr. Frau	0,3	.					Lyse	Lichen serofulosorum
			.	0,2					„	
50	O. B.	23-jähr. Mann	0,3	.					Lyse	Verdacht auf Syphilis
			.	0,2					„	
51	N. N.	20-jähr. Frau	0,2	Ascitesflüs-					inkomplette Lyse	Schistosomiasis (Ascitesflüssigkeit benutzt)
			.	0,2 sigkeit (0,2)					Lyse	

Meine Untersuchungen bezogen sich auf 1 Ascitesflüssigkeit und 50 Seren, die von 43 Personen stammen. Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist, erhielt ich von 11 Seren der Schistosomum-Kranken allemal deutlich und konstant positive Reaktion mit dem Würmchenextrakt, nur in einem Fall (No. 13) eine etwas inkomplette positive Reaktion, was vielleicht darauf beruhte, daß das benutzte Serum alt war (8 Tage nach der Entnahme verflossen). Mit Ascitesflüssigkeit fiel die Reaktion negativ aus. Im übrigen verursachten die Seren der Schistosomum-Kranken mit einem luetischen Leberextrakt niemals Bindung.

Von 19 Seren der Syphiliskranken habe ich in 16 Fällen mit dem Würmchenextrakt keine Bindung, in 3 Fällen (No. 24,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

45, 46) sowohl mit dem Würmchenextrakt als auch mit einem luetischen Leberextrakt Bindung beobachtet. Diese bei Syphilis gelegentlich vorkommende positive Reaktion läßt die Frage aufwerfen, ob es sich hier um eine besondere Eigenheit der untersuchten Seren handelte, oder ob etwaige in gewissem Zusammenhang zueinander stehende Momente in den Seren bei beiden Krankheiten oder in beiden Antigenen vorliegen. Darüber Klarheit zu verschaffen, erfordert noch weitere Forschungen. Bei Kontrollproben mit Seren der anderweitig Erkrankten und der Gesunden war der Ausfall stets negativ. Bisweilen ergaben sich in Kontrollproben (No. 9, 10, 18, 31) einige abgestufte Hemmungen der Hämolyse, doch liegt zwischen einer positiven und einer negativen Reaktion eine weite Kluft, so daß das Urteil sehr leicht ist.

Andererseits habe ich versucht, durch Vorbehandeln eines Tieres mit dem Würmchenextrakt im Körper desselben gewisse Substanzen zu erzeugen, welche mit demselben Extrakt Komplementbindung hervorruft. Ich injizierte einem Kaninchen wiederholt (5mal im Intervall von je 5 Tagen) das Würmchenextrakt subkutan, in der Dosis von 0,4 ccm, in 10-facher Menge von 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Es gelang mir nicht, im Blutserum des Kaninchens irgendwelche Substanz durch das Komplementbindungsverfahren nachzuweisen.

Es war mir leider wegen Mangels an Material nicht möglich gewesen, durch eine noch größere Zahl von Versuchen und eingehendere Untersuchungen die Resultate zu erhärten; ich behalte mir vor, bei Gelegenheit das Fehlende zu ergänzen.

Zusammenfassung.

1) Ich beobachtete regelmäßig und konstant eine positive Komplementbindungsreaktion mit Serum des an japanischer Schistosomum-Krankheit leidenden Individuums, wenn als Antigen das alkoholische Extrakt von Schistosomum japonicum benutzt wird.

2) Ich konnte demnach annehmen, daß eine Substanz im Serum des Kranken auftritt, welche mit gewissen Substanzen im Saugwürmchenleibe eine Komplementbindung verursacht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Ich glaube, daß man durch Komplementbindungsreaktion die japanische Schistosomum-Krankheit diagnostizieren kann.

4) Es gelang mir nicht, durch Vorbehandeln eines Kaninchens mit alkoholischem Extrakt von Schistosomum japonicum den sogenannten Antikörper zu erzeugen.

Herr Prof. A. Fujinami hat sein eigenes Blutserum und genügende Menge Saugwürmchen, und Herr Prof. U. Matsuura, der übrigens aus Forschungseifer leider selbst schistosomkrank wurde, auch sein eigenes Blutserum als wertvolles Material in entgegenkommendster Weise mir zur Verfügung gestellt, ferner hat mich Herr Dr. K. Otani, mein vertrauter, in serologischer Arbeit erfahrener Kollege mit allerlei Rat und Hilfe unterstützt. All den Herren spreche ich meinen wärmsten Dank aus.

Literatur.

1) Kyoto Igaku Zassi (Mitteilungen d. med. Ges. zu Kyoto), Bd. 4, Heft 4, 1907 und Bd. 6, Heft 4, 1909.
2) Tokyo Igakkai Zassi (Mitteilungen d. med. Ges. zu Tokyo), Bd. 18, Heft 3 und 4, 1905.
3) Okayama Igakkai Zassi (Mitteilungen d. med. Ges. zu Okayama), 1905, No. 173, 175, 176.
4) Virchows Arch., Bd. 193, 1908.
5) Kyoto Igaku Zassi, Bd. 1, Heft 3, 1905.
6) Kyoto Igaku Zassi, Bd. 2, Heft 4, 1906.
7) Tokyo Igaku Zassi, Bd. 7, Heft 22 und 23, 1894.
8) Brit. Med. Journ., 1905, No. 2297.
9) The Philip. Jour. of Science, Vol. 1, 1906.

Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalt in Czernowitz.]

Ueber den Zusammenhang der hämagglutinierenden und präzipitierenden Fähigkeit pflanzlicher Antigene.

Von **H. Raubitschek** und **M. Wilenko.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Februar 1910.)

Seitdem vor allem durch die Arbeiten Landsteiners und seiner Mitarbeiter, Zanggers u. a. weitgehende Analogien in der Wirkung anorganischer Kolloide mit Reaktionen der Immunkörper und verwandter Stoffe aufgedeckt wurden, hat die physikalische Chemie eine immer größere Bedeutung in der Immunitätsforschung gewonnen, zumal da es den Anschein hat, daß die Kolloidchemie für eine Reihe von Phänomenen der Immunitätslehre eine befriedigendere Lösung anzubahnen imstande ist als andere gangbare Theorien. Wenn man sich auch im allgemeinen darüber klar sein wird, daß die Erkenntnis, die Immunitätsforschung sei die Chemie amphoterer Kolloide, die beiden großen Rätsel, die Spezifizität und die Antikörperproduktion auf dem Gebiete der Kolloidchemie bis jetzt nicht gelöst hat, so muß man doch zugestehen, daß in vielen anderen Fragen (Hämagglutination, Präzipitation) die kolloidchemische Auffassung hierher gehöriger Reaktionen einiges Licht gebracht hat.

Vor allem die Erklärung der Agglutination und der enge Zusammenhang derselben mit der Präzipitation wird von vielen Seiten mit der gegenseitigen Beeinflussung von kolloiden Lösungen und Suspensionen als befriedigend erachtet; beide Reaktionen sind einfach als Niederschlagsbildungen anzusehen, nur sind in dem einen Fall die sich zum Niederschlag vereinigenden Teilchen verhältnismäßig klein (Präzipitation), im Falle der Agglutination von beträchtlicher Größe (Erythrocyten).

Es würde hier zu weit führen, auf die Theorie der Kolloidfällung als solcher näher einzugehen und zu erinnern, daß eine

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verbindung zweier Kolloide resp. eine Niederschlagsbildung nur dann eintreten kann, wenn zwei in entsprechenden Mengen in Reaktion gebrachte Kolloide entgegengesetzte elektrische Ladung haben, wahrscheinlich wegen des elektrischen Ausgleiches der ungleich geladenen Teilchen. So gut eine große Anzahl von experimentell gefundenen Tatsachen auch mit dieser Auffassung sich vereinigen läßt, so scheint doch diese Erklärung für alle hierher gehörigen Fälle nicht ohne weiteres anwendbar. So konnte vor kurzem gezeigt werden[1]), daß Eiweißkörper pflanzlicher Provenienz nicht nur die Eigenschaft haben, Tiersera zu flocken, sie reagieren auch untereinander zuweilen unter Niederschlagsbildung, was aus der nachstehenden kleinen Tabelle übersichtlich hervorgeht.

Tabelle I.

	Ricin 1 ccm	Abrin 1 ccm	Mais 1 ccm	Hühnerserum 1 ccm
Bohnen 1 ccm	Niederschlag	Niederschlag	klar	Niederschlag
Ricin 1 ccm	klar	klar	Niederschlag	starker Niederschlag
Hühnerserum 1 ccm	starker Niederschlag	Niederschlag	Niederschlag	klar

Allerdings wissen wir seit den Untersuchungen von Landsteiner und Jagic[2]) und Pauli[3]), daß Eiweißstoffe als amphotere Elektrolyte sowohl durch positive als durch negative anorganische Kolloide fällbar und durch saure und basische Farbstoffe tingibel sind.

Wenn demnach nicht nur Bohnenextrakt resp. Ricin unter Niederschlagsbildung mit Hühnerserum reagiert (was sich zwanglos mit der Annahme einer differenten elektrischen Ladung des tierischen und pflanzlichen Eiweißes wohl erklären ließe), sondern auch Bohnenextrakt und Ricin zusammengemischt Präzipitate bilden, so wäre auch ein differentes elektrisches Verhalten von Bohnenextrakt resp. Ricin zu postulieren.

1) M. Wilenko, Ueber das Präzipitationsvermögen pflanzlicher Eiweißstoffe. Diese Zeitschr., Orig., Bd. 5, 1910.

2) Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 27.

3) Hofmeisters Beiträge, Bd. 7, 1906, p. 531.

Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

In der eingangs erwähnten Arbeit von Wilenko konnten Beobachtungen wiedergegeben werden, die für einen nicht unmittelbaren Zusammenhang zwischen Agglutination und Präzipitation sprechen.

Es konnte nämlich gezeigt werden, daß zahlreiche Phytagglutinine ganz unabhängig von ihrem differenten hämagglutinierendem Vermögen auf verschiedene Erythrocytenarten die Blutsera aller untersuchten Tiere in ungefähr gleichem Maße zu präzipitieren vermögen, daß also eine ältere Behauptung Kraus'[1]), daß nur Sera derjenigen Tiere Niederschläge geben, deren Blutkörperchen auch agglutiniert werden, den Tatsachen nicht mehr ganz gerecht wird.

Diesbezüglich erscheinen anfangs die Versuche mit Krotin beweisend, da dieses Phytotoxin, trotzdem es mit Kaninchenserum in ausgesprochener Weise unter Niederschlagsbildung reagiert, Kaninchenblutkörperchen angeblich nicht zu agglutinieren, sondern nur zu lösen vermag.

In nachstehenden Tabellen ist der Einfluß von Krotin auf Kaninchenblut (Kaninchenserum) und Schweineblut (Schweineserum) übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle II.

Prüfung der hämagglutinierenden Eigenschaft des Krotins auf Kaninchen- (resp. Schweineblut), dreimal gewaschen, 5-proz. Aufschwemmung abgelesen nach 2ʰ bei 37 ° C und einer Nacht im Eiskasten.

Verdünnungen des Krotins	Kaninchenblut	Schweineblut
1	inkompl. Hämol., Agglut.[2])	Keine Hämol., starke Agglut.
1/2	" " "	" " " "
1/4	" " "	" " " "
1/8	" " "	" " " "
1/16	" " "	" " " "
1/32	θ Hämol., Spur Agglut.	" Spur Agglutination "
1/64	" " "	θ
1/128	θ	θ
1/256	θ	θ
1/512	θ	θ

1) Zur Theorie der Agglutination. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 23 (vergl. bes. die Versuche mit Ziegenserum).

2) Die Flüssigkeit in diesen Röhrchen zeigte die Farbe kompletter Hämolyse, daneben bestand ein Sediment, das sich bei der mikroskopischen

Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle III.

Präzipitationsversuch mit Krotin und Kaninchenserum und Schweineserum. Abgelesen nach 2h bei 37° C. ++ = Niederschlag, + = Trübung, θ = klar.

Verdünnungen des Krotins	Kaninchenserum			Schweineserum		
	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	++	+	θ	++	+	θ
0,5	+	θ	θ	+	+	θ
0,1	θ	θ	θ	θ	θ	θ

So aussichtsvoll also hier die Versuche anfangs erschienen, auf die Unabhängigkeit der agglutinierenden Eigenschaft vom Präzipitationsvermögen beim Krotin und Kaninchenserum zu schließen, ergaben sie deswegen nicht das erwartete Resultat, da Krotin nicht nur hämolytisch, sondern auch hämagglutinierend auf Kaninchenblut wirkt.

Interessanter erscheinen deshalb Versuche, die mit dem NaCl-Extrakt aus Erbsen in demselben Sinne angestellt wurden und deren Resultat ohne weiteres aus nachstehender Tabelle ersichtlich ist.

Tabelle IV.

Agglutinationsversuch mit Erbsenextrakt und Kaninchen- resp. Hühnerblut (3mal gewaschen). Abgelesen nach 2h bei 37° C und einer Nacht im Eiskasten.

Verdünnungen des Erbsenextraktes	Kaninchenblut	Hühnerblut
1	+++	+
1/2	+++	θ
1/4	+++	θ
1/8	+++	θ
1/16	+++	θ
1/32	+++	θ
1/64	+++	θ
1/128	++	θ
1/256	+	θ
1/512	+	θ
1/1024	+	θ
1/2048	+	θ
1/4096	θ	θ

Untersuchung aus agglutinierten Erythrocyten und Blutschatten bestehend erwies.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Präzipitationsversuch mit Erbsenextrakt und Kaninchen- resp. Hühnerserum. Abgelesen nach 2ʰ bei 37° C.

Mengen des Erbsenextraktes	Kaninchenserum 1 ccm	Hühnerserum 1 ccm
1,0	starker Niederschlag	starker Niederschlag
0,8	" "	" "
0,6	" "	" "
0,4	" "	" "
0,2	" "	" "
0,1	Niederschlag	Trübung
0,005	Trübung	θ

Aus beiden vorstehenden Tabellen geht eindeutig hervor, daß Erbseneiweiß, das noch in bemerkenswerten Verdünnungen Kaninchenerythrocyten zu agglutinieren vermag und Hühnerblutkörperchen so gut wie gar nicht beeinflußt, mit Kaninchen- und Hühnerserum in ungefähr gleicher Intensität unter Niederschlagsbildung reagiert.

Analoge Versuche konnten noch mit dem gleichen Resultat mit anderen Kombinationen angestellt werden, so daß schon aus diesen Experimenten hervorzugehen scheint, daß die hämagglutinierende und die präzipitierende Eigenschaft der pflanzlichen Antigene voneinander unabhängig ist.

Gestützt wird diese Annahme noch durch zahlreiche Erfahrungen, daß Eiweißarten pflanzlicher Provenienz im allgemeinen die Eigenschaft haben, Sera der Kalt- und Warmblüter in bestimmten Mengen zu präzipitieren [1]), während nur eine beschränkte Anzahl unter ihnen sich auch durch hämagglutinierende Eigenschaften auszeichnet.

So seien aus der Fülle des hierher gehörigen Materials die diesbezüglichen Versuche mit Mais- und Hafereiweiß angeführt, die deutlich zeigen, daß das Präzipitationsvermögen ganz unabhängig von der Eigenschaft, Blutkörperchen zu agglutinieren, vorkommt (Tabelle VI).

1) Wilenko, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Verwendetes Serum	Mais			Hafer		
Menschenserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0,1	klar	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Menschenblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Ziegenserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0,1	f.Nied.	klar	„	klar	klar	„
0,025	klar	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Ziegenblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Schweineserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	trüb	klar	klar
0,1	f.Nied.	klar	„	klar	„	„
0,025	klar	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Schweineblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Schafserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	Nied.	klar	klar
0,1	klar	klar	„	klar	„	„
0,025	„	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Schafblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Kaninchenserum	1,0	0.5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	st. Nd.	d. trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0.1	f.Nied.	trüb	„	trüb	klar	„
0,025	trüb	klar	„	klar	„	„
0,012	klar	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Kaninchenblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Pferdeserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	Nied.	trüb	klar
0,1	f.Nied.	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Pferdeblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Rinderserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0.5	0,1
1.0	Nied.	trüb	klar	Nied.	l. trüb	klar
0.1	trüb	klar	„	klar	klar	„
0,025	„	„	„	„	„	„
0,012	klar	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Rinderblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verwendetes Serum	Mais			Hafer		
Hühnerserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	Nied.	l. trüb	klar
0,1	trüb	klar	„	klar	klar	„
0,025	klar	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Hühnerblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Entenserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	trüb	klar	Nied.	l. trüb	klar
0,1	trüb	klar	„	klar	klar	„
0,025	klar	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Entenblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Gansserum	1,0	0.5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	Nied.	d. trüb	trüb	Nied.	klar	klar
0,1	trüb	klar	klar	klar	„	„
0,025	klar	„	„	„	„	„
0,012	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Ganslblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ
Karpfenserum	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
1,0	f.Nied.	l. trüb	klar	f.Nied.	klar	klar
0,1	klar	klar	„	klar	„	„
0,02	„	„	„	„	„	„
Kontrolle mit Karpfenblut	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Es erschien deshalb naheliegend, anzunehmen, daß bei denjenigen pflanzlichen Antigenen, die sowohl präzipitieren als auch hämagglutinieren, diese beiden Eigenschaften auf zwei differente Stoffe zurückgeführt werden könnten. Zur experimentellen Stütze dieser Annahme, der Trennung beider Körper oder Vernichtung nur eines derselben, standen mehrere Methoden zur Verfügung.

So haben wir entsprechend den Erfahrungen Landsteiners und seiner Mitarbeiter die hohe Affinität, die die Hämagglutinine zu Eiweißkörper im allgemeinen haben, benutzen wollen, um durch Adsorption an Kasein und andere Eiweißstoffe aus Ricin resp. Bohnenextrakten das Hämagglutin isoliert zu entfernen. Wenn auch in zahlreichen diesbezüglichen Versuchen bei Behandlung einer Ricin- resp. Abrinlösung mit Kasein, getrocknetem Serumalbumin usw. im allgemeinen der hämagglutinierende Titer wesentlich stärker geschädigt erschien als das präzipitierende Vermögen, so fielen dennoch mehrere

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Experimente nicht so eindeutig aus, daß aus deren Resultat mit Sicherheit auf das Vorhandensein zweier voneinander unabhängiger Stoffe hätte geschlossen werden können.

Im Gegenteil zeigten viele derartige Versuche, daß nicht nur die hämagglutinierende, sondern auch die fällende Substanz im Samenextrakt sich durch eine ausgesprochene Affinität zu Eiweiß auszeichnet, eine Tatsache, die ja im engsten ursächlichen Zusammenhang mit dem Phänomen der Präzipitation als solcher stehen dürfte.

Weiter haben wir versucht, durch Abspaltung von agglutinierten, mit Ricin beladenen und mehrfach gewaschenen Blutkörperchen eine Flüssigkeit zu gewinnen, die durch elektive Adsorption des Agglutinins an die Erythrocyten, keine präzipitierende Eigenschaften aufweist. Bei diesen Versuchen haben wir uns an die Angaben Landsteiners[1]) erinnert, der mit Hilfe dieser von ihm zuerst beschriebenen Methode Agglutininlösungen zu reinigen versucht hat.

Tabelle VII.

In diesem Versuchen wurde zu 3,0 ccm eines Ricinextraktes 1,0 ccm 3mal gewaschenen Blutbreies (Kaninchen) gegeben und durch mehrere Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Hierauf wurde das Blut so lange mit phys. NaCl auf der Zentrifuge gewaschen, bis die Waschflüssigkeit Hühnerblut (um eine spezifische Adsorption auszuschließen) nicht mehr agglutinierte (Beobachtungszeit 2ʰ bei 37° C eine Nacht Eiskasten). Erst wenn die Waschflüssigkeit keine Agglutination zeigte, wurde der Blutbrei in 5,0 ccm phys. NaCl aufgeschwemmt und unter mehrfachem Schütteln durch 1ʰ bei 45° C belassen. Hierauf wurde in heißen Zentrifugenröhrchen rasch zentrifugiert und die überstehende stark hämolytische Flüssigkeit auf Agglutination (Kaninchenblut) und Präzipitation (Kaninchenserum) geprüft.

Mengen der Spaltflüssigkeit	Kaninchenblut	Kaninchenserum
1,0	starke Agglutination	θ
0,8	„ „	θ
0,6	„ „	θ
0,4	Agglutination	θ
0,2	Spur	θ

Wie aus vorstehender Tabelle hervorgeht, gelingt es nach der Methode Landsteiners tatsächlich eine Spaltflüssigkeit zu erhalten, die nur mehr agglutinierend, aber nicht mehr präzipitierend wirkt. Bei dem Ausfall derartiger Versuche

1) Münch. med. Wochenschr., 1902, p. 1905.

Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

mußte geschlossen werden, daß entweder die Erythrocyten nicht imstande sind, erhebliche Mengen der präzipitierenden Substanz überhaupt zu binden, oder falls eine derartige Bindung in gleicher Intensität wie beim Agglutinin vorhanden ist, daß die Blutkörperchen unter dem Einfluß der höheren Temperatur den präzipitierenden Stoff nicht so leicht wieder abgeben wie das Hämagglutinin [1]).

Zur Entscheidung dieser Frage wurden hämagglutinierende Samenextrakte mit empfindlichen Blutarten zusammengebracht und untersucht, ob dadurch der präzipitierende Titer in gleicher Weise wie der hämagglutinierende abnimmt. Von den zahlreichen diesbezüglichen Versuchen sei folgender näher ausgeführt.

Tabelle VIII.

5 ccm eines Erbsenextraktes werden mit 2,0 Blutbrei (Kaninchen 3mal gewaschen) durch 6^h bei Zimmertemperatur belassen. Hierauf wird abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit auf Hämagglutination und Präzipitation geprüft. Die auf Hämagglutination zu prüfende Flüssigkeit wurde, um zu lange Reihen zu vermeiden, vor dem Titrieren so wie der Originalextrakt 100mal verdünnt.

Abgelesen nach 2^h 37° und eine Nacht im Eiskasten.

A. Hämagglutination mit Kaninchenblut.

Verdünnung des Erbsenextraktes	Original Erbsenextrakt	Absorbierter Extrakt
$^1/_{100}$	+++	++
$^1/_{200}$	+++	+
$^1/_{400}$	+++	θ
$^1/_{800}$	++	θ
$^1/_{1600}$	+	θ
$^1/_{3200}$	+	θ
$^1/_{6400}$	θ	θ

B. Präzipitationsversuch mit Kaninchen- und Hühnerserum.
+++ = Niederschag, + = Trübung, θ = klar.

Menge des Erbsenextraktes	Original Extrakt		Absorbierter Extrakt	
	Kaninchen-serum	Hühner-serum	Kaninchen-serum	Hühner-serum
1,0	+++	+++	+++	+++
0,5	+++	+++	++	+++
0,1	+++	+++	++	+++
0,05	+	θ	+	+
0,01	θ	θ	θ	θ

1) Allerdings wäre auch der Fall in Erwägung zu ziehen, daß die so erhaltenen Lösungen zu schwach waren, um deutliche Präzipitation erkennen zu lassen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie demnach aus vorstehenden Tabellen hervorgeht, gelingt es nicht, die präzipitierende Kraft des Erbsenextraktes durch empfindliches Blut in gleicher Weise zu schwächen, wie die hämagglutinierende Fähigkeit. Es hat demnach den Anschein, als ob die Affinitäten, die die Erythrocyten zu dem Präzipitin haben, wenn überhaupt vorhanden, wesentlich schwächer sind als zu dem Agglutinin.

Bei dem Ausfall derartiger Versuche war es selbstverständlich interessant, zu erfahren, ob durch Zusatz von Serum zu einem agglutinierenden und präzipitierenden Samenextrakt beide Eigenschaften desselben in gleicher oder verschiedener Weise gehemmt würden.

Tabelle IX.

5,0 Erbsenextrakt bleiben mit 3,0 Kaninchenserum 2^{h} bei 37° und eine Nacht im Eiskasten beisammen (starker Niederschlag).

Die klare überstehende Flüssigkeit wird mit Kaninchenblut (3mal gewaschen), mit Kaninchenserum und Hühnerserum austitriert; als Kontrolle 5,0 Erbsenextrakt + 3,0 phys. NaCl.

A. Hämagglutinationsversuch.

Verdünnung des Erbsenextraktes	Original Extrakt	Ausgefällter Extrakt
$^{1}/_{100}$	Agglutiniert	Agglutiniert
$^{1}/_{200}$	"	"
$^{1}/_{400}$	"	"
$^{1}/_{800}$	"	"
$^{1}/_{1600}$	"	"
$^{1}/_{3200}$	Spur	θ
$^{1}/_{6400}$	θ	θ

B. Präzipitationsversuch.

Mengen des Extraktes	Original Extrakt		Ausgefällter Extrakt	
	Kaninchenserum	Hühnerserum	Kaninchenserum	Hühnerserum
1,0	+++	+++	θ	+
0,8	+++	+++	θ	θ
0,6	++	+++	θ	θ
0,4	++	+++	θ	θ
0,1	+	++	θ	θ
0,05	θ	+	θ	θ
0,01	θ	θ	θ	θ

Aus vorstehend wiedergegebenen Versuchen ergibt sich evident, daß das Hämagglutinin in ausgesprochener

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weise von den empfindlichen Erythrocyten, das Präzipitin vom Serum gebunden wird.

Bei dieser Differenz der biologischen Reaktion erscheint demnach der Schluß gerechtfertigt, daß die hämagglutinierenden und die präzipitierenden Eigenschaften mancher pflanzlicher Antigene voneinander unabhängig und wahrscheinlich durch zwei differente Stoffe im Samenextrakt bedingt sind.

Bei der weitgehenden Analogisierung gerade dieser Immunitätsreaktion mit Reaktionen anorganischer Kolloide erscheint es notwendig, hier ausführlich noch auf einen der Versuche einzugehen, die nach der oben beschriebenen Methodik mit Phosphorwolframsäure ausgeführt wurde. Wie wir seit den Versuchen von Landsteiner und Jagič[1]) wissen, zeichnen sich viele wässerige Lösungen kolloidaler Säuren durch bemerkenswerte hämagglutinierende Eigenschaften und durch ihr Vermögen aus, in Eiweißlösungen (Serum) in bestimmten Mengen Niederschläge zu erzeugen.

Tabelle X.

5,0 $^1/_{50}$ Acidum phospho-wolframicum (sol. 10 Proz. E. Merck) in phys. NaCl. + 2,5 Kaninchenblutbrei bleiben 6^h im Eiskasten; hierauf wird klar zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit mit Kaninchenblut und Kaninchenserum titriert.

A. Hämagglutination.

Verdünnungen der Wolframsäure	Phosphorwolframsäure Original	Phosphorwolframsäure nach Absorpt. mit Blut
$^1/_{50}$	starke Agglutination	θ
$^1/_{100}$	" "	θ
$^1/_{200}$	Agglutination	θ
$^1/_{400}$	Spur	θ
$^1/_{800}$	θ	θ

B. Präzipitationsversuch

mit je 1,0 $^1/_{20}$ Kaninchenserum.

Mengen der Wolframsäure	Phosphorwolframsäure Original	Phosphorwolframsäure nach Absorpt. mit Blut
1.0	+++	θ
0,8	++	θ
0,6	++	θ
0,4	+	θ
0,2	θ	θ
0,1	θ	θ

1) Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 3; Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 27.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.

5,0 $^1/_{10}$ Phosphorwolframsäure bleiben mit 3,0 Hühnerserum 2^h bei 37° (starker Niederschlag); hierauf wird klar zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit mit Hühnerblut resp. $^1/_{20}$ Hühnerserum titriert.

Als Kontrolle 5,0 $^1/_{10}$ Phosphorwolframsäure + 3,0 NaCl.

A. Hämagglutinationsversuch.

Verdünnungen der Säure	Phosphorwolframsäure Original	nach Ausfällen mit Serum
$^1/_{20}$	starke Agglutination	θ
$^1/_{40}$	" "	θ
$^1/_{80}$	" Agglutination	θ
$^1/_{160}$	Spur	θ
$^1/_{320}$	θ	θ

B. Präzipitationsversuch.

Mengen der Säure	$^1/_{20}$ Phosphorwolframsäure Original	nach Ausfällen mit Serum
1,0	++	θ
0,8	++	θ
0,6	++	θ
0,4	++	θ
0,2	+	θ
0,1	θ	θ

Der Ausfall dieser Versuche war mit Sicherheit schon vorher zu postulieren, da ja bei der Wolframsäure ein und derselbe Körper in dem einen Fall die Erythrocyten agglutiniert, im anderen Fall die Eiweißlösung fällt. Beide Reaktionen sind wohl als einfache Niederschlagsbildungen anzusehen, bei denen die den Niederschlag zusammensetzenden Elemente in dem einen Fall äußerst feine Teilchen einer kolloiden Lösung (Serum), in dem anderen Falle verhältnismäßig große, in gleicher Weise mit der Wolframsäure in Verbindung tretende Teilchen einer Suspension (Blutkörperchenaufschwemmung) sind.

Zusammenfassung.

Die eiweißfällenden und hämagglutinierenden Eigenschaften mancher Phytalbumine stehen untereinander in keinem engen Zusammenhang, und sind auf zwei voneinander unabhängige Stoffe zurückzuführen.

Die pflanzlichen Antigene unterscheiden sich auch in diesem Punkte von den anorganischen kolloiden Säuren[1]).

1) Vergl. dagegen Landsteiner, Handbuch der Biochemie der Menschen und der Tiere, herausgegeben von Oppenheimer, Bd. II, 1. Teil, p. 432 ff., und Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 47, p. 1623.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn[1]).]

Ueber die Dysenteriegifte.

Von Privatdozent Dr. **H. Selter,**
Vorsteher der Medizinaluntersuchungsstelle.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Februar 1910.)

Die folgende Arbeit stellt einen Teil der in den letzten Jahren im Bonner Institut unter Leitung von Prof. Kruse ausgeführten Untersuchungen über die Ruhr dar. Sie faßt die von ihm selbst, von Rittershaus, Hösch, Pane und Lotti, Bürgers und anderen Mitarbeitern und großenteils von mir gemachten, meist noch nicht veröffentlichten Versuche über Ruhrgifte zusammen.

Schon bei den ersten Immunisierungsversuchen, die Kruse 1900 an Kaninchen anstellte, fiel es ihm auf, daß diese Tiere selbst kleine Mengen abgetöteter Dysenteriekulturen sehr schlecht vertrugen, so daß eine Immunisierung sich kaum durchführen ließ. Andere Tiere waren viel weniger empfänglich gegen abgetötete Ruhrbacillen mit Ausnahme der Esel und Pferde im ersten Stadium der Erkrankung. Charakteristische Erscheinungen, außer hochgradiger Muskelschwäche, wurden bei letzteren Tieren ebensowenig beobachtet, wie sie beim ruhrkranken Menschen gewöhnlich vorkommen.

Es wurde damals auch schon deshalb kein erheblicher Wert auf die Empfindlichkeit der Kaninchen gelegt, als die Pseudodysenteriebacillen, die Kruse bald als die Erreger dieser zweiten Form der bacillären Ruhr erkannt hatte, für Kaninchen viel weniger giftig waren.

Etwas anders wurde die Sache als Conradi, Neisser und Shiga, sowie Rosenthal mit Produkten der Dysenteriebacillen, besonders nach intravenöser Einverleibung bei Ka-

1) Aus äußeren Gründen hat sich die Veröffentlichung dieser Arbeit, die Anfang 1909 vor der Uebersiedelung von Prof. Kruse nach Königsberg beendet war, bis jetzt verzögert. Die Hauptergebnisse wurden von Prof. Kruse schon auf der Naturforscherversammlung zu Köln (September 1908) vorgetragen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ninchen außer Lähmungen auch ruhrähnliche Erscheinungen im Darm der behandelten Tiere erhielten. Das bestimmte auch uns, systematische Untersuchungen über das oder besser über die Dysenteriegifte auszuführen. Im folgenden berichte ich über dieselben, fasse mich aber in den Punkten, in denen wir mit den Angaben in der seither stark angeschwollenen Literatur übereinstimmen, kurz.

Der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen war ein anderer, als der der übrigen Forscher. Da wir zu den Immunisierungsversuchen meist frische 24-stündige Agarkulturen, die mit 10 ccm 0,8-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und 1—2 Stunden im Wasserbad bei 60°[1]) sterilisiert worden waren, angewandt und bei diesen schon starke Giftwirkungen beobachtet hatten, prüften wir diese zuerst genauer an den besonders empfänglichen Kaninchen, und zwar intravenös. Wir sahen bald, daß man mit den abgetöteten Agarkulturen kräftige Giftwirkungen erzielen kann; die stärkste Giftwirkung wurde so ziemlich nach 2 Stunden Sterilisierung erreicht.

Tabelle I.

24-stündige Agarkulturen[2]) mit NaCl-Lösung abgeschwemmt, 1 Stunde im Wasserbad bei 60°, intravenös injiziert.

Kan.	1710[3])	$^1/_{40}$	Kultur	bleibt leben
„	1850	$^1/_{40}$	„	Tod nach 4 Tagen
„	1630	$^1/_{40}$	„	Tod nach 24 Std. An zwei Stellen im Dünndarm kleine Hämorrhagien
„	1730	$^1/_{20}$	„	Tod nach 2 Tagen
„	1550	$^1/_{10}$	„	„ „ 24 Stunden
„	1590	$^1/_{10}$	„	„ innerhalb 24 Stunden

Tabelle II.

Die abgeschwemmten Kulturen 2 Stunden bei 60° im Wasserbad, iv.

Kan.	2630	$^1/_{40}$	Kultur	Tod	nach	24 Stunden
„	2710	$^1/_{80}$	„	„	„	$2^1/_2$ Tagen

1) Gewöhnlich schwankte die Temperatur während der Sterilisierung zwischen 60 und 65°. Nur so war eine sichere Abtötung zu erreichen.

2) Es wurde zu diesen und den meisten folgenden Versuchen stets derselbe Dysenteriestamm Förster, der für Meerschweinchen stark infektiös war und, nach Laboratoriumsinfektionen zu urteilen, auch seine Virulenz für den Menschen behalten hat, benutzt.

3) Die Zahlen hinter der Tierbezeichnung bedeuten die Gewichte der Tiere.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wesentlich bessere Ergebnisse wurden, wie gesagt, auch bei mehr als 24-stündigem Sterilisieren bei 60° nicht erzielt.

Die Giftwirkung wurde nach Sterilisieren der Aufschwemmungen bei etwas höheren Temperaturen (70° oder 80°) nur wenig geschwächt; Kochen schädigt sie aber stark.

Tabelle III.

Die abgeschwemmten Agarkulturen, 1 Stunde bei 70°, iv.

Kan.	2130	$^1/_{40}$	Kultur	Tod nach 4 Tagen, 1770[1])
„	2190	$^1/_{20}$	„	„ „ 2 „ 2080
„	1670	$^1/_{10}$	„	„ „ 24 Stunden, 1430

Tabelle IV.

Die abgeschwemmten Kulturen, 1 Stunde bei 80°, iv.

Kan.	2300	$^1/_{40}$	Kultur	Tod nach 21 Tagen
„	1980	$^1/_{20}$	„	„ „ 2 „
„	1600	$^1/_{10}$	„	„ „ 7 „

Tabelle V.

Die abgeschwemmten Agarkulturen, 10 Minuten gekocht, iv.

Kan.	1250	$^1/_{10}$	Kultur	keine Wirkung
„	1360	$^1/_5$	„	„ „
„	1550	$^1/_5$	„	nimmt ab bis 1320, bleibt leben
„	2010	$^1/_2$	„	„ „ „ 1730, „ „
„	2070	$^3/_4$	„	bleibt leben
„	1770	1	„	Tod nach 8 Tagen
„	1830	2	„	„ „ 2 „

Tabelle VI.

Die abgeschwemmten Kulturen, 2 Stunden gekocht, iv.

Kan.	1640	2	Kulturen	nimmt ab bis 1420, bleibt leben
„	1700	4	„	nimmt ab bis 1370, erholt sich wieder, stirbt nach 8 Wochen

Es galt jetzt festzustellen, ob die bei 60° abgetöteten Agarkulturen ihre erhebliche Giftigkeit den Bacillen selbst verdankten, oder ob beim Sterilisieren der abgeschwemmten Kulturen die wirksamen Stoffe in die NaCl-Lösung übergingen.

Die abgeschwemmten Agarkulturen wurden 2 Stunden bei 60° sterilisiert, dann scharf zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird abgenommen; wir bezeichnen sie in der Folge als 60°-Extrakt. Zunächst wurden die zentrifugierten Bakterienleiber zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen und dann intravenös in NaCl-Lösung aufgeschwemmt injiziert.

1) Gewicht der Tiere beim Tode.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

60° Bacillenleiber iv.

Kan.	1260	$^1/_{10}$	Kultur	Tod	nach	2	Tagen
„	1750	$^1/_{10}$	„	„	„	3	„
„	2130	$^1/_{10}$	„	„	„	2	„
„	1600	$^1/_3$	„	„	„	2	„
„	1650	$^1/_2$	„	„	„	24	Stunden
„	1345	1	„	„	innerhalb	24	Stunden
„	1450	1	„	„	„	24	„

Die Bacillenleiber sind demnach nach der Extraktion nicht mehr so wirksam wie die ganzen Kulturaufschwemmungen; es war also anzunehmen, daß die Gifte größtenteils in die NaCl-Lösung übergegangen seien, wie wir es in der Tat in der Tabelle VIII sehen.

Tabelle VIII.

60° Extrakt iv.

Kan.	1520	$^1/_{40}$	Kultur	Tod	nach	2	Tagen
„	2350	$^1/_{40}$	„	„	„	2	„
„	2260	$^1/_{80}$	„	„	„	2	„
„	1720	$^1/_{100}$	„	„	„	24	Stunden

Das Optimum der Extraktion liegt bei 2-stündiger Einwirkung einer Temperatur von 60°. Längeres Extrahieren oder Ausziehen bei höherer Temperatur schädigt die Wirkung.

Kan.	1890	$^1/_{20}$	Kultur	2	Std.	80°-Extrakt	Tod	nach	5	Tagen
„	2100	$^1/_{20}$	„	2	„	80° „	„	„	5	„

Aus den bei 60° extrahierten Bacillen lassen sich aber durch nochmaliges Extrahieren mit NaCl-Lösung weitere Giftmengen gewinnen, deren Wirkung allerdings lange nicht so stark ist wie bei dem ersten 60°-Extrakt. Aber auch nach wiederholtem Ausziehen behalten die Bacillenleiber noch einen Teil ihrer Giftwirkung.

Kan.	1365	$^1/_{10}$	Kultur	sekundäres	4	Std.	60°-Extrakt	Tod	nach	5 Tagen
„	1165	$^1/_{10}$	„	„	22	„	60° „	„	„	28 „
„	1335	1	Kultur Bacillen sekundär 22 Std. bei 60° extrahiert, zentrifugiert und gewaschen					Tod innerhalb 24 Std.		

Das für Kaninchen so verderbliche, bei 60° extrahierte Gift verliert beim Kochen schnell seine Wirksamkeit, so sind nach 10 Minuten langem Kochen bereits 4 Kulturen gleich 160 tödlichen Dosen des 60°-Extraktes notwendig, um ein Kaninchen prompt zu töten, nach 2-stündigem Kochen sogar 10 Kulturen gleich 400 tödlichen Dosen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX.

Der 60°-Extrakt 10 Minuten gekocht, iv. injiziert.

Kan.	1590	$^3/_4$	Kultur	nimmt ab bis 1400 nach 2 Tagen, dann wieder zu
„	1500	$^3/_4$	„	nimmt ab bis 1350 nach 2 Tagen, dann wieder zu
„	2800	1	„	nach 6 Tagen gelähmt, am 7. wieder besser, lebt
„	1550	$1^1/_4$	„	bleibt leben
„	1550	$1^1/_2$	„	„ „
„	1690	2	„	nimmt ab bis 1490 am 4. Tage, dann wieder zu bis 1590. Tod nach 24 Tagen, 1290
„	1610	$2^1/_2$	„	bleibt leben
„	1750	4	„	Tod innerhalb 24 Stunden
„	1620	5	„	Tod nach 6 Tagen

Kan.	1370	10	Kulturen	60°-Extrakt	2	Std.	gekocht	Tod	nach	2	Tagen
„	2090	10	„	60°	„	5	„	„	„	3	„

Die Wirkung der einverleibten Kulturgaben, ganz gleich wie sie behandelt waren, wenn sie nur in akut tödlichen Mengen gegeben wurden, äußerte sich bei den Kaninchen stets in derselben charakteristischen Weise. Bei den Tieren entwickelte sich entsprechend der Höhe der Dosis früher oder später eine fortschreitende Parese der Extremitäten mit deutlich ausgeprägtem Opisthotonus, der unter leichten Krämpfen zum Tode führte. Bei weniger großen Gaben dauerte dieser Zustand oft tagelang, bei kleinen Gaben trat gelegentlich auch eine Besserung ein und die Tiere erholten sich langsam. Die Giftwirkung war stets von einer Gewichtsabnahme begleitet.

Dagegen fanden wir nur in ziemlich wenigen Fällen und ohne Gesetzmäßigkeit die Erscheinungen einer hämorrhagischen Entzündung im Blind- und Dickdarm, meist nur in Form von Injektion der Schleimhautfalten und ausgebreiteten Oedem. Außerdem wurden Nekrosen oder Geschwüre beobachtet. Auf die diesbezüglichen Befunde der anderen Forscher komme ich unten noch zu sprechen, ebenso auf die Frage, um was für Gift es sich bei den Kaninchen handelt. Hervorheben möchte ich nur noch einmal, daß die Wirkung beim Kaninchen dieselbe war, ob wir lebende, abgetötete Extrakte oder gewaschene extrahierte Bacillenleiber, auch nach vorhergehendem Kochen, verwandten.

Wir müssen daher die charakteristische Wirkung der Dysenteriebakterien beim Kaninchen auf ein besonderes, für diese Tiere gefährliches Gift zurückführen, das leicht von den Bacillen abgegeben wird. Auch die Wirkung der lebenden Ruhrbacillen ist beim Kaninchen nur durch dieses Gift be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dingt, da wir erstens dabei dieselben Gifterscheinungen erhielten, und andererseits die lebend einverleibten Bacillen, wie durch eingehende, im hiesigen Institut ausgeführte Untersuchungen bewiesen werden konnte, ohne Vermehrung im Körper der Kaninchen zugrunde gehen.

Kan.	1580	$^1/_{10}$	Kultur	lebend	Tod innerhalb 24 Std.,				1450
„	1910	$^1/_{10}$	„	„	„	nach	2	Tagen,	
„	2120	$^1/_{20}$	„	„	„	„	2	„	1870
„	2200	$^1/_{40}$	„	„	„	„	3	„	1800
„	2850	$^1/_{40}$	„	„	„	„	2	„	2320
„	1820	$^1/_{80}$	„	„	„	„	17	„	1300
„	1590	$^1/_{100}$	„	„	„	„	20	„	1000
„	1450	$^1/_{100}$	„	„	„	„	32	„	1080

Die lebenden Bacillen werden von den Kaninchen anscheinend etwas besser vertragen wie die bei 60° abgetöteten und deren Extrakte; die Tiere gehen bei denselben kleinen Dosen, die im letzten Fall noch akut töteten, nicht so schnell zugrunde, sondern erst nach längerer Zeit unter beständiger Gewichtsabnahme. Man kann dies wohl daraus erklären, daß die Bacillen im Organismus und wahscheinlich zum größten Teil intrazellulär vernichtet bezw. aufgelöst werden, wobei das Gift langsamer in die Blutbahnen gelangt. Bei den abgetöteten Kulturen ist ein großer Teil des Giftes frei in der Lösung und kann dementsprechend auch momentan auf den Organismus einwirken. Bemerkenswert ist, daß uns eine Immunisierung der Kaninchen mit dem Extrakt noch schlechter gelang als mit den abgetöteten oder lebenden Kulturen: die Tiere vertrugen die erste unterletale Dosis ganz gut und nahmen nach anfänglicher Gewichtsabnahme bald wieder zu. Nach weiteren Gaben, auch wenn diese noch so vorsichtig gesteigert oder in derselben Stärke gegeben wurden, gingen die Tiere oft schon nach der zweiten langsam an Marasmus zugrunde.

Das in dem 60°-Extrakt enthaltene Gift läßt sich mit den übrigen Eiweißstoffen zusammen durch Alkohol, Ammonsulfat u. a. leicht ausfällen und trocknen, wobei es allerdings einen Teil seiner Wirkung einbüßt. Mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt ist es längere Zeit haltbar, verliert dabei allerdings ebenfalls einen Teil seiner Wirksamkeit.

Im Gegensatz zu der intravenösen Einverleibung, bei der wir mit $^1/_{40}$ Kultur mit großer Regelmäßigkeit den Tod der Kaninchen bewirken konnten, erhält man bei subkutaner In-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jektion sehr unbeständige Resultate und braucht auch größere Dosen, um den Tod der Kaninchen herbeizuführen. Es läßt dies darauf schließen, daß das Gift in dem subkutanen Gewebe teilweise gebunden wird, obwohl nur sehr geringe örtliche Erscheinungen zu konstatieren sind.

Kan.	1760	subk.	$^1/_{10}$	Kultur	60°-Extrakt		Tod nach 24 Std.
„	1770	„	$^1/_{10}$	„	60°	„	nimmt ab bis 1560 nach 3 Tg., dann wieder zu. Am 3. Tage gelähmt, am 5. wieder besser
„	1500	„	$^1/_4$	„	60°	„	nimmt ab bis 1280 nach 4 Tg., dann wieder zu
„	1580	„	$^1/_4$	„	60°	„	Tod nach 3 Tagen, nach 2 Tagen gelähmt
„	1350	„	$^1/_3$	„	60°	„	nimmt ab bis 1100 nach 5 Tg., am 3. gelähmt, nach 6 Tagen wieder besser
„	1359	„	$^1/_3$	„	60°	„	Tod nach 2 Tagen
„	2450	„	$^1/_2$	„	60°	„	„ „ 3 „
„	2525	„	$^1/_2$	„	60°	„	„ „ 3 „

Die bei 60° extrahierten Bacillenleiber zeigen bei subkutaner Einverleibung ungefähr dieselbe Wirkung wie die Extrakte.

Kan.	1620	subk.	$^1/_2$	Kultur	Bacillenleiber	Tod nach 3 Tagen, 1390, nach 2 Tagen gelähmt
„	1460	„	$^1/_2$	„	„	Tod nach 4 Tagen, 1350, nach 2 Tagen gelähmt

Werden die gewaschenen Bacillenleiber noch 10 Minuten gekocht, so geht die Giftwirkung verloren.

Kan.	1360	subk.	$^1/_2$	Kultur	gekochte	Bacillenleiber	keine	Wirkung
„	1320	„	$^1/_2$	„	„	„	„	„

Bisher haben wir nur über die Versuche berichtet, die mit unserem alterprobten Laboratoriumsstamm Förster angestellt waren. Daneben haben wir aber auch bei einer Reihe anderer echter Dysenteriestämme in ähnlicher Weise die Giftwirkung geprüft; wir fanden, daß die verschiedenen Dysenteriestämme für Kaninchen ungleich giftig sind. Vor allem zeigte der Stamm Kral, der bemerkenswerterweise für Meerschweinchen fast gar nicht infektiös oder giftig war, und auch durch spontane Agglutination seine Entartung bewies, die höchste Giftigkeit (ca. $^1/_{50}$—$^1/_{100}$ mg).

Kan.	1170	$^1/_{100}$	Kultur	lebend	Kral		Tod nach	6	Tagen
„	1200	$^1/_{100}$	„	„	„		„ „	6	„
Kan.	1510	$^1/_{200}$	Kultur	Kral	60°	abgetöt.	Tod nach	24	Std.
„	1790	$^1/_{400}$	„	„	60°	„	„ „	4	Tagen
„	1910	$^1/_{500}$	„	„	60°	„	„ „	2	„
„	1840	$^1/_{500}$	„	„	60°	„	„ „	3	„
„	1400	$^1/_{2000}$	„	„	60°	„	„ „	10	„ Im Darm punktförmige Hämorrhagien

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kan.	2460	$^1/_{500}$	Kultur	Kolter	60°	abgetöt.	Tod nach 4 Tagen
„	1950	$^1/_{200}$	„	„	60°	„	nimmt ab bis 1680, bleibt leben
Kan.	1200	$^1/_{10}$	Kultur	Müller	60°	abgetöt.	Tod nach 2 Tagen
„	2850	$^1/_{10}$	„	„	60°	„	„ „ 24 Std.
„	2990	$^1/_{50}$	„	„	60°	„	„ „ 2 Tagen
„	3360	$^1/_{200}$	„	„	60°	„	nimmt ab bis 2850, bleibt leben
Kan.	2420	$^1/_{20}$	Kultur	Shiga	60°	Extrakt	Tod innerhalb 24 Std.
„	2210	$^1/_{20}$	„	Rom	60°	„	„ nach 4 Tagen
„	1870	$^1/_{100}$	„	Colombo	60°	„	„ „ 24 Std.

Im Verlauf unserer Arbeiten untersuchten wir weiter, ob sich in den Pseudodysenteriebacillen ebenfalls für Kaninchen wirksame Gifte nachweisen ließen. Wie die anderen Forscher, die mit Pseudodysenteriebakterien gearbeitet haben, konnten auch wir der Regel nach weder in den lebenden, noch in abgetöteten Kulturen und den keimfreien Extrakten erhebliche Giftwirkungen für Kaninchen konstatieren. Die Tiere nahmen an Gewicht ab, blieben aber selbst bei größeren Dosen meist am Leben; in einzelnen Fällen erhielten wir allerdings dabei auch ausgesprochene Lähmungen.

Kan.	1370	$^1/_5$	Kultur	Psdys.	Elise	lebend	keine Wirkung
„	1370	$^1/_5$	„	„	B II	„	nimmt ab bis 1130 nach 8 Tagen, bleibt leben
„	1550	$^1/_5$	„	„	Klinik	„	nimmt ab bis 1270 nach 8 Tagen, bleibt leben
„	1580	$^1/_2$	„	„	Braun	„	Tod nach 24 Stunden
„	2330	$^1/_2$	„	„	„	„	Tod nach 2 Tagen
„	1590	$^3/_4$	„	„	„	„	Tod innerhalb 24 Stunden
„	2270	1	„	„	„	„	„ „ 24 „
„	2040	1	„	„	„	„	Tod nach 24 Stunden, vor dem Tode an den hinteren Extremitäten gelähmt
„	1800	1	„	„	Gruppe	„	Tod nach 2 Tagen, nach einem Tage an den hinteren Extremitäten gelähmt
Kan.	1300	$^1/_8$	Kultur	Psdys.	Gruppe	60°-Extr.	nimmt ab bis 1200, dann wieder zu, erhält nach 8 Tagen (1380) nochmals 1 Kultur mit Bacillen, nimmt ab bis 1180, bleibt leben
„	1800	$^1/_4$	„	„	„	60° „	nimmt ab bis 1650, erhält nach 8 Tagen (1780) nochmals $^1/_2$ Kultur, bleibt leben
„	1910	1	„	„	„	60° „	nimmt ab bis 1760, lebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kan.	1710	$^1/_8$	Kultur	Psdys.	Braun	60°-Extr.		keine Wirkung, erhält n. 8 Tagen nochmals 1 Kult. mit Bac., nimmt ab bis 1560, lebt
„	1710	$^1/_4$	„	„	„	60°	„	nimmt ab bis 1590, erhält nach 8 Tag. (1750) nochmals 5 Kulturen Extrakt, nimmt ab bis 1520, lebt
„	1730	1	„	„	„	60°	„	nimmt ab bis 1600, lebt
„	1700	$^1/_8$	„	„	Paralyse	60°	„	Tod nach 32 Tagen
„	1810	$^1/_4$	„	„	„	60°	„	bleibt leben
„	1830	1	„	„	„	60°	„	Tod nach 9 Tagen 1400

Nachdem wir gesehen hatten, daß es gelingt, durch 2-stündiges Extrahieren frischer Agarkulturen mit physiologischer Kochsalzlösung bei 60° ein kräftig wirksames Gift zu bekommen, fragten wir uns, ob die Methoden anderer Forscher noch bessere Resultate ergeben würden. Conradi versetzte die von Agarplatten abgekratzten Bakterienmassen mit $^2/_3$ Kochsalzlösung und hielt das Gemisch 24 bis 48 Stunden bei 37°. Die überstehende Flüssigkeit wurde abpipettiert, mit der 5-fachen Menge Kochsalzlösung verdünnt und durch Berkefeldfilter filtriert. 0,1 ccm dieses Filtrates töteten Kaninchen bei intravenöser Injektion innerhalb 48 Stunden. Das Filtrat zeigte also in Anbetracht der benützten Bakterienmenge keine sehr hohe Giftigkeit. Wir wandten die aseptische Autolyse in der Weise an, daß wir die wie gewöhnlich mit 10 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmten Agarkulturen 2 Tage bei 37° hielten und dann zentrifugierten.

Kan.	1640	$^1/_{40}$	Kultur	autolysierte Bacillenaufschw.	Tod innerhalb 24 Std.
„	1700	$^1/_{40}$	„	keimfreies Zentrifugat	Tod nach 19 Tagen.

Die durch Autolyse gewonnene keimfreie Giftlösung war also nicht so wirksam, wie unser Extrakt.

Neisser und Shiga schwemmten eine Agarkultur mit 10 ccm Kochsalzlösung auf, hielten die Aufschwemmung 1 Stunde bei 60° dann 2 Tage bei 37° und filtrierten. 0,2 bis 0,5 ccm des Filtrates töteten intravenös injiziert Kaninchen innerhalb 2 Tagen. Wir stellten den Versuch in derselben Weise mit unserer Dysenteriekultur Förster an, fanden jedoch, daß das so gewonnene Zentrifugat nicht giftiger war als unser Extrakt.

Kan.	1610	$^1/_{40}$	Kultur	vor dem Zentrifugieren	Tod nach 2 Tagen
„	1980	$^1/_{40}$	„	Zentrifugat	bleibt leben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Todd und Rosenthal konnten in dem Filtrat 20 bis 30 Tage alter alkalischer Bouillonkulturen kräftige Giftwirkungen nachweisen. Diese Befunde sind, abgesehen davon, daß sie andere Forscher zum Studium der Giftbildung der Ruhrbacillen anregten, auch insofern von Bedeutung, als das Gift in ähnlicher Weise hergestellt wurde, wie es bei den bekannten Toxinen der Diphtherie usw. geschieht, und dieses auch Antitoxin erzeugte. Wir versetzten zur Nachprüfung je 10 ccm Bouillon mit 2 und 4 Tropfen 10-proz. Sodalösung, hielten die mit unserem Stamm geimpften Kulturen 21 Tage bei 37° und zentrifugierten.

Kan. 1440	$^1/_{20}$	Kultur	(2 Tropfen Soda)	Tod innerhalb 24 Stunden
„ 1620	$^1/_{40}$	„	(2 „ „)	„ nach 2 Tagen
„ 1770	$^1/_{80}$	„	(2 „ „)	„ „ 2 „
„ 1725	$^1/_{20}$	„	(4 „ „)	„ „ 3 „ im Darm diphtherische Geschwüre

In diesen Bouillonkulturen erhält man allerdings Giftlösungen, die an Wirksamkeit unserem Extrakt gleichkommen und ihn sogar zu übertreffen scheinen, wenn man bedenkt, daß gewöhnliche Bouillonkulturen weit weniger Bakterienmasse zu enthalten pflegen, als Agarkulturen. Um näheren Aufschluß über das Wachstum der Ruhrbacillen in der alkalischen Bouillon zu erhalten, bestimmten wir nach verschiedenen Tagen — natürlich stets nach kräftigem Schütteln — die in $^1/_{10}$ Normalöse enthaltenen Bacillen.

Tabelle X.

Bakterienzahl in $^1/_{10}$ Oese.

Bouillon	nach 2 Tag.	nach 3 Tag.	nach 5 Tag.	nach 6 Tag.	nach 10 Tg.	nach 14 Tag.	nach 16 Tg.	nach 21 Tg.
ohne Soda	150 000	135 000	75 000	102 000	23 000	9 750	10 800	16 800
2 Trpf. „	—	—	—	—	—	42 000	67 500	24 000
4 „ „	—	—	—	—	—	120 000	60 000	18 000

In den Röhrchen mit 2 und 4 Tropfen Soda war demnach ein viel kräftigeres Wachstum eingetreten, wodurch sich auch wohl ungezwungen die stärkere Giftwirkung dieser Bouillon erklären läßt.

Kraus und Doerr fanden später, daß bei einem gewissen Optimum der Alkaleszenz in Peptonbouillon schon nach 10 Tagen reichlich Gift gebildet wird. Das Alkaleszenzoptimum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erhielten sie, wenn sie zu einem Liter neutraler Peptonbouillon 3 g kristallisierte Soda hinzufügten. Die Nährflüssigkeit sollte dann an Phenolphthalein gemessen so alkalisch sein, daß pro Liter ca. 10 ccm Natronlauge erforderlich wäre, um den Neutralpunkt zu erreichen. Unsere mit dem so zubereiteten Nährboden gewonnenen Giftlösungen zeigten folgendes Verhalten.

Kan.	1940	$^1/_{20}$	Kultur Förster			Tod nach 24 Stunden 1710, im Dickdarm bis pfennigstückgroße diphtherische Geschwüre, starkes Oedem
„	1940	$^1/_{100}$	„			bleibt leben
„	1860	$^1/_{20}$	„	Stamm	Král	Tod nach 24 Stunden 1590
„	1840	$^1/_{100}$	„	„	„	„ „ 2 Tagen 1570
„	1630	$^1/_{20}$	„	„	Krakau	„ „ 2 „ 1350
„	1640	$^1/_{100}$	„	„	„	„ „ 2 „ 1400
„	2550	$^1/_{200}$	„	„	„	„ „ 2 „ Im Dünndarm blutig schleimiger Inhalt, im Coecum und Dickdarm kein Befund

Auch in dieser Bouillon findet man kräftige Giftlösungen; sie sind aber nicht viel stärker als die nach unserem Verfahren gewonnen; denn wie wir oben gesehen haben, besitzen die 60°-Extrakte von Král die gleiche Wirkung. Unser Verfahren wird aber, selbst nur gleiche Resultate vorausgesetzt, vor der Bouillonkultur den Vorzug verdienen, da wir hierdurch in etwa 30 Stunden eine wirksame Giftlösung haben können. Man kann auch vorläufig kaum annehmen, daß das Bouillongift von dem Agargift verschieden sei. Kraus und Doerr geben zwar an, daß die Mehrzahl ihrer eingegangenen Kaninchen charakteristische Darmerscheinungen, wie sie bei der menschlichen Ruhr beobachtet werden, aufgewiesen hätten. Auch wir fanden bei Tieren, die an dem Bouillongift zugrunde gegangen waren, etwas häufiger Geschwürsbildungen. Man könnte also daran denken, daß neben der paralytischen Komponente, die wir in unseren frischen Kulturaufschwemmungen stets reichlich antrafen, eine hämorrhagische vorhanden sei, die sich der Hauptsache nach erst allmählich bildete. Ob aber wirklich die Art der Darstellung der Ruhrgiftes derartige qualitative Unterschiede bedingt, könnten erst größere Versuchsreihen entscheiden. Uebrigens haben andere Forscher, die bei ihren Untersuchungen das Gift nach der Methode von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kraus und Doerr darstellten, auch nicht die Darmbefunde in der von Kraus und Doerr angegebenen Häufigkeit nachweisen können. Kolle, Heller und de Mestral konnten sie zwar in einer Anzahl von Fällen nachweisen, bei der Mehrzahl aber nur in geringer Intensität. Bei den Untersuchungen von Schottelius mit dem Bouillongift zeigten 6 bis 8 Proz. der Kaninchen positiven Darmbefund. Kolle, Heller und de Mestral glauben, daß die Kaninchenrasse, gleichzeitige Coccidiose oder abgelaufene Coccidieninfektion bei der Entstehung starker Darmveränderungen eine gewisse Rolle spielen.

Kraus und Doerr haben dann noch durch einfaches 1-stündiges Schütteln von Kochsalzaufschwemmungen 24-stündiger Agarkulturen ein für Kaninchen wirksames Gift erhalten. Dieses so hergestellte Gift besitzt jedoch nach unseren diesbezüglichen Versuchen eine geringere Wirkung.

Kan.	1850	$^1/_{10}$	Kultur	Tod	nach	3	Tagen	1450
„	2350	$^1/_{10}$	„	„	„	2	„	2200
„	2560	$^1/_{40}$	„	„	„	5	„	2120
„	1840	$^1/_{40}$	„	bleibt leben				

Kolle, Heller und de Mestral stellten umfangreiche Untersuchungen über das Dysenteriegift an. In 15—20-tägigen Bouillonkulturen fanden sie die beste Giftwirkung; nach längerer Bebrütung nimmt sie ab. Außer dem Bouillongift benutzten sie noch auf andere Weise hergestellte Gifte, so das „Waschwassergift“, welches dadurch gewonnen wird, daß frische Agarkulturen mit Kochsalzlösung abgeschwemmt, 15 Minuten bei Zimmertemperatur in Berührung gelassen und scharf zentrifugiert werden. Ferner stellten sie ein „Aggressingift“ dar, indem sie Agarkulturen mit sterilem destillierten Wasser abschwemmten, 2 Tage lang schüttelten und die Emulsion durch Zentrifugieren und Filtrieren von den Bakterienleibern befreiten. Als Versuchstiere benutzten Kolle, Heller und de Mestral außer Kaninchen vorzugsweise Mäuse, die sie für die Auswertung des Dysenteriegiftes für geeigneter als Kaninchen halten, da sie gleichmäßiger auf Einverleibung des Giftes reagierten. Um näheren Aufschluß über die Natur der auf die verschiedenen Arten hergestellten Gifte zu bekommen, immunisierten sie Pferde und Ziegen mit

Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

den einzelnen Giftlösungen. Mit den durch das Bouillongift und dem Waschwassergift gewonnenen Sera konnten sie sowohl das Bouillon- wie das Waschwassergift neutralisieren, das Aggressingift dagegen nur schwer und nur mit sehr viel größeren Mengen. Andererseits wurden durch Immunisierung von Tieren mit abgetöteten Agarkulturen oder deren Extrakten und gewaschenen abgetöteten Agarkulturen Sera gewonnen, die gegenüber dem Bouillon- und Waschwassergift nicht unwirksam waren, wenn auch in geringem Maße. Sie schließen daraus, daß das aus den Agarkulturen ausgewaschene Gift mit dem in Filtraten der Bouillonkulturen enthaltenen identisch ist, und daß es sich hierbei um ein echtes Toxin handle. Daneben sei aber auch die Leibessubstanz der Bakterien selbst giftig, sie enthalte Endotoxine mit denen sich kein echt antitoxisches Serum herstellen lasse. Natürlich sei in der Leibessubstanz neben den Endotoxinen auch Toxin vorhanden.

Wir kommen damit zu der Frage, ob es sich bei dem Dysenteriegift um ein Toxin oder Endotoxin handelt, eine Frage, die in letzter Zeit zu lebhaften Erörterungen Veranlassung gegeben und auch auf der 2. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie (1908) zur Diskussion gestanden hat.

Pfeiffer hält die Dysenteriegifte für Endotoxine, als als deren wesentlichstes Merkmal er hinstellt, daß sie fest an die Bakterienzelle gebunden sind und in der Regel nur durch künstliche Mittel und wohl kaum ohne tiefgreifende chemische Aenderung von ihnen getrennt werden können. Er bestreitet nicht die Möglichkeit, daß antitoxische Stoffe gegen dieselben erzeugt werden können, leugnet aber, daß das bisher wirklich festgestellt sei, denn antiendotoxische Eigenschaften sollten nur solchen Seris zuerkannt werden, welche imstande seien, lebende oder vorsichtig abgetötete Bakterien vollständig zu entgiften und physiologisch indifferent zu machen. Später hat Pfeiffer selbst aber mit Ungermann zusammen die starke antiendotoxische Wirkung des Ruhrserums bei Kaninchen bestätigt. Kolle und Heller betonen ziemlich willkürlich, daß sich nur gegen ein echtes Toxin ein antitoxisches Serum herstellen lasse, das dem Gesetz der Multipla

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gehorche, wie es bei dem Dysenterieimmunserum zutreffe, und daß demnach das von der Bakterienzelle gelöste Dysenteriegift als ein echtes Toxin anzusprechen sei. Gegen Endotoxine könne man wohl ein antiendotoxisches Serum gewinnen, das aber nicht dem Gesetze der Multipla gehorche, und dessen giftneutralisierende Wirkung eine sehr geringe sei. Das Dysenterietoxin hält Kolle für einen einheitlichen Körper, dagegen sei das Dysenterieendotoxin aus einer Summe der verschiedenen den Bakterienleib zusammensetzenden giftigen Protoplasmasubstanzen gebildet, wodurch die Unregelmäßigkeit in der Wirkung der Serumpräparate, welche mit den Leibessubstanzen der Bakterien hergestellt seien, gegenüber den Endotoxinen der Dysenteriebacillen verständlich würde. Als eine besondere Eigenschaft dieser Endotoxine sieht Heller die Fähigkeit an, bei Mäusen während der Dauer der Vergiftung Durchfall hervorzurufen, was bei der Vergiftung mit dem löslichen Toxin nicht beobachtet worden sei. Kraus und Doerr fanden Unterschiede in der Wirksamkeit der Bouillonkulturfiltrate und Agarextrakte bei verschiedenen Tierarten. Kaninchen sollen auf beide Giftarten in gleicher Weise reagieren; dagegen erwiesen sich Mäuse für Bouillonfiltrate sehr resistent, reagierten aber auf das Agarextraktgift. Die Gifte aus Agarextrakten sollen daher neben dem Dysenterietoxin noch ein zweites für Mäuse und Meerschweinchen wirksames Gift enthalten, welches endocellulärer Natur sei. Auf dem Mikrobiologentag nahm Kraus bezüglich der Streitfrage Toxin oder Endotoxin einen mehr vermittelnden Standpunkt ein, indem er es für nebensächlich erklärt, ob das Gift sezerniert oder durch Zerfall der Bakterienleiber frei werde, wichtiger sei, daß das endocelluläre Gift mit dem Filtratgift identisch sei. Schottelius glaubt daraus, daß man das Dysenterietoxin schon nach 5 Tagen in Bouillonkulturen nachweisen könne, schließen zu dürfen, daß man es mit einem echten Toxin und nicht mit einem durch spätere Absterbe- und Zerfallserscheinungen der Bakterienleiber ausgelaugten Gift zu tun habe. Klein tritt der Auffassung von Kraus und Doerr entgegen, daß die Ruhrbacillen ein echtes Toxin in Bouillon zu sezernieren imstande seien. Er konnte nachweisen, daß das durch Einspritzungen von Bouillonfiltraten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gewonnene Serum ein hohes Neutralisationsvermögen auch gegen das Endotoxin besitzt, woraus er schließt, daß es sich in den Bouillonfiltraten in erster Linie um ausgelaugte Bakterienleiber, um ein Endotoxin handeln müsse. Nach Klein nimmt das Endotoxin der Ruhrbacillen zwischen den schon bekannten Endotoxinen Typhus, Cholera eine sonderbare Stelle ein, da es wie die echten Toxine im Tierkörper ein antitoxisches Serum erzeugt.

Wir müssen auch heute noch den Standpunkt beibehalten, den Kruse bereits längere Zeit vertreten hat, daß das Kaninchenruhrgift ein Endotoxin ist, und daß man daraus, daß es gelingt, aus jungen Bacillen dasselbe Gift künstlich auszuziehen, das man in älteren Kulturfiltraten erhält, und gegen dieses Gift ein Antitoxin herzustellen, ebenso wie aus zahlreichen anderen neuerdings gemachten Erfahrungen, den Schluß ziehen kann, daß die Unterscheidung zwischen sekretorischen, hitzeempfindlichen Toxinen, die spezifisch und mit Inkubation wirken und Antitoxin erzeugen, und den durch Zerfall der Leibessubstanz frei werdenden Endotoxinen mit entgegengesetzten Eigenschaften eine künstliche ist.

Jedenfalls unterliegt es nach den Angaben aller Forscher, die sich mit der Frage beschäftigt haben, keinem Zweifel, daß man durch Immunisierung von Tieren mit abgetöteten Dysenteriekulturen und deren Filtraten Immunsera gewinnen kann, die antitoxisch wirken. Auch unsere Versuche liefern dazu einen Beitrag. Das Immunserum, welches zu den nachstehend aufgeführten Untersuchungen benutzt wurde, war durch Immunisierung eines Esels mit abgetöteten Agarkulturen, die zuerst subkutan, dann intravenös in großen Dosen einverleibt wurden, gewonnen. Dieses Serum agglutinierte in einer Verdünnung von 1 : 2000 prompt und wirkte noch in Verdünnung von 1 : 200000 bakterizid (Reagenzglasversuch). Daneben wirkte es antitoxisch in erster Linie auf das Kaninchengift, in zweiter Linie auf das später zu beschreibende Meerschweinchengift.

Kolle, Heller und de Mestral halten die Kaninchen zur Auswertung der antitoxischen Kraft eines Dysenterieserums nicht für so geeignet wie die weißen Mäuse, da die Versuchsreihen wegen der verschiedenen Empfänglichkeit der Kaninchen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stets unregelmäßig ausfielen. Kraus und Doerr bestritten das, und wir müssen ihnen beistimmen, denn auch wir bekamen mit der von uns als sicher tödlich festgestellten Dosis von $^1/_{40}$ Agarkultur 60°-Extrakt stets recht gleichmäßige Resultate. Alter und Gewicht spielen natürlich eine gewisse Rolle, aber keine größere als bei den Mäusen auch, die außerdem viel weniger empfänglich für das Kaninchengift, aber für andere Gifte der Dysenteriebacillen empfänglicher zu sein scheinen.

Wir suchten festzustellen, wie sich unser Serum im Mischungsversuch gegen das 60°-Extrakt, gegen abgetötete Agarkulturen und gewaschene extrahierte Bacillenleiber verhalten würde, und ob das Serum Schutz- und Heilwirkung auszüben imstande sei.

Tabelle XI.

Je $^1/_4$ Agarkultur 60°-Extrakt = 10 tödliche Dosen wird mit abgestuften Mengen des Immunserums vermischt, die Mischung 1 Stunde bei 22° gelassen und intravenös injiziert.

		nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen	nach 11 Tagen	
Kan. 1430	$^1/_4$ Kult. + NaCl.	Tod					
„ 1610	$^1/_4$ „ + 1 ccm Ser.	1600	1650	1560	1520	—	Tod nach 8 Wochen
„ 1465	$^1/_4$ „ + 0,1 „ „	1430	1460	1460	1600	1460	lebt
„ 1835	$^1/_4$ „ + 0,01 „ „	1730	1770	1750	1820	1710	Tod nach 8 Wochen
„ 1760	$^1/_4$ „ + 0,005 „ „	1650[1])	1600[2])	1600	1610	—	Tod nach 12 Wochen
„ 1500	$^1/_4$ „ + 0,001 „ „	1330	1390	1290	1340	—	lebt

Wir sehen in diesem Versuch, daß das Serum eine sehr hohe neutralisierende Wirkung gegen den 60°-Extrakt besitzt; 0,001 ccm vermochte noch die 10-fach tödliche Dosis zu entgiften. Der Versuch wurde im Jahre 1905 ausgeführt. Als wir den Versuch im folgenden Jahre wiederholten, war das Serum in seiner Wirkung beträchtlich heruntergegangen.

1) Krank, an den Hinterläufen, paretisch. Durchfall.
2) Parese verschwunden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XII.

Je $^1/_4$ Agarkultur 60°-Extrakt wird mit abgestuften Serummengen vermischt, die Mischung 2 Stunden bei 37° und weitere 22 Stunden im Eisschrank gelassen, intravenös injiziert.

		nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	
Kan. 1520	$^1/_4$ Kult. + NaCl	1430 †			
„ 1470	$^1/_4$ „ + 0,0001 ccm Ser.	1260 †			
„ 1410	$^1/_4$ „ + 0,001 „ „	1250	1170 †		
„ 1390	$^1/_4$ „ + 0,01 „ „	1260	—	1140	Tod n. 10 Tagen

Auch hier ist noch bei 0,001 ccm Serum eine gewisse und bei 0,01 ccm Serum eine deutliche Wirkung zu sehen, wenn auch das Tier vor dem Tode nicht geschützt werden konnte. Ich führe dann noch einige Versuche an, die zeigen, daß das Serum auch in den nächsten Jahren noch eine ziemlich bedeutende Neutralisationskraft dem Extraktgift gegenüber behielt.

Tabelle XIII.

60° Extrakt mit Serum eine halbe Stunde bei 37° vermischt intravenös injiziert.

Kan. 2360 $^1/_4$ Kultur + 0,1 ccm Serum nimmt ab bis 2110 n. 2 Tagen, lebt
„ 2350 $^3/_4$ „ + 0,3 „ „ „ „ „ 2030 „ 3 „ „

Hier wurden also 10—30 tödliche Gaben durch 0,1—0,4 ccm Serum neutralisiert.

Weitere Versuche dienten dazu, die Wirkung des Serums bei getrennter gleichzeitiger Injektion des Extraktes und Serums in verschiedene Ohrvenen zu prüfen.

Tabelle XIV.

60°-Extrakt und Serum zu gleicher Zeit getrennt intravenös injiziert.

Kan. 1830	$^1/_{40}$ Kultur[1])			Tod nach 5 Tagen
„ 1350	$^1/_{40}$ „ [1])	und 0,1 ccm Serum		bleibt leben
„ 1900	$^1/_{20}$ „ [1])			Tod nach 4 Tagen
„ 1620	$^1/_{20}$ „ [1])	„ 0,1 „	„	bleibt leben
„ 2130	$^1/_{10}$ „			Tod innerhalb 24 Stunden
„ 1670	$^1/_{10}$ „	„ 0,1 „	„	Tod nach 2 Tagen
„ 1870	$^1/_8$ „	„ 0,2 „	„	Tod innerhalb 24 Stunden
„ 1990	1 „	„ 0,3 „	„	„ „ 24 „

1) Der 60°-Extrakt ist einige Tage alt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei kleinen Giftdosen tritt also eine Wirkung des Serums zutage. Kaum zu reden ist von einer solchen, wenn man das Extraktgift zuerst intravenös injiziert und einige Zeit später das Serum.

Tabelle XV.

Kan.	1590	$^1/_{20}$	Kultur [1])				Tod nach 24 St.	
„	1230	$^1/_{20}$	„	nach 1 St.	0,3 ccm	Serum	Tod innerhalb 24 St.	
„	1430	$^1/_{20}$	„	„ 6 „	0,3 „	„	Tod nach 2 Tagen	
„	1500	$^1/_{40}$	„ [1])				„ „ 3	„
„	1100	$^1/_{40}$	„	„ 1 „	0,3 „	„	„ „ 2	„
„	1340	$^1/_{40}$	„	„ 6 „	0,3 „	„	„ „ 2	„

Injiziert man das Extraktgift und Serum subkutan an verschiedenen Stellen, so scheinen Schutz- und Heilversuche bessere Erfolge zu haben, wie die folgende Tabelle zeigt. Erst größere Versuchsreihe können aber die Grenzen derselben genauer bestimmen, weil die einzelnen Versuche zu unregelmäßig ausfallen.

Tabelle XVI.

Subkutan 60°-Extrakt und vorher oder nachher Serum.

	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 6 Tagen	nach 7 Tagen	nach 10 Tagen	nach 17 Tagen
Kan. 1940 subk. $^1/_{10}$ Kultur	1810	1810	1740	1650	1560 gelähmt	1490 besser	1530	1700	1670
„ 1290 „ $^1/_7$ „	1860	1710	1650	1620	1430 gelähmt	1350 Tod			
„ 1450 „ $^1/_4$ „	1310	1270	1220	1300	1280	1270	1350	1460	1430 lebt
„ 1640 „ $^1/_3$ „	1700	1620 gelähmt	1530 stärker	1500 Tod					
„ 1450 „ $^1/_4$ „ nach $^1/_4$ St. 1 ccm Serum	1340	1360	1290	1400	1270	1300		1350	1420 lebt
Kan. 1490 subk. $^1/_4$ Kultur nach 6 St. 1 ccm Serum	1390	1300 Tod							
Kan. 1550 subk. $^1/_3$ Kultur nach $^1/_4$ St. 1 ccm Serum	1350	1370	1260 gelähmt	1410 besser	1340	1300	1400	1470	1530 lebt
Kan. 1610 subk. $^1/_3$ Kultur nach 4 St. 1 ccm Serum	1385	1350 Tod							
Kan. 1550 subk. 1 ccm Serum nach 24 St. $^1/_3$ Kultur	1530	1420	1450	1610	1570	1470	1120	1680	1530 lebt

In zweiter Linie untersuchten wir nun die Wirkung unseres Serums gegenüber abgetöteten Agarkulturen, d. h. eines Gemisches der Leiber und des Extraktgiftes.

1) Der 60°-Extrakt ist einige Tage alt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XVII.

2 Stunden 60° abgetötete Agarkulturen werden mit abgestuften Mengen Immunserum vermischt, die Mischung 2 Stunden bei 37° und 22 Stunden im Eisschrank gelassen. Zur Kontrolle wird ein Röhrchen mit normalem Eselserum angesetzt, intravenös injiziert.

Kan.	1620	$^1/_{40}$	Kultur		Tod nach 2 Tagen		1310
„	1650	$^1/_4$	„		Tod innerhalb 24 St.		1450
„	2370	$^1/_4$	„	+ 1 ccm norm. Eselser.	„ „	24 „	2190
„	1130	$^1/_4$	„	+ 1 „ Immunserum	„ „	24 „	1060
„	1230	$^1/_4$	„	+ 0,1 ccm „	„ „	24 „	1130
„	1360	$^1/_4$	„	+ 0,01 ccm „	„ „	24 „	1190
„	1660	$^1/_4$	„	+ 0,001 ccm „	„ „	24 „	1490
„	1990	$^1/_4$	„	+ 0,0001 ccm „	„ „	24 „	1900

Da hier bei der 10mal tödlichen Gabe keine Wirkung zu bemerken war, wiederholten wir den Versuch mit kleineren Kulturmengen.

Tabelle XVIII.

Versuchsanordnung wie bei Tabelle XVII.

Kan.	1580	$^1/_{20}$	Kultur		Tod innerhalb 24 St.		
„	1510	$^1/_{20}$	„	+ 1 ccm normales Eselserum	„ „	24 „	
„	1470	$^1/_{20}$	„	+ 0,1 ccm Immunserum	„ „	24 „	
„	1440	$^1/_{20}$	„	+ 0,001 ccm „	„ „	24 „	

Tabelle XIX.

Die bei 60° abgetöteten Kulturen werden mit Serum vermischt, $^1/_2$ Stunde bei 37° gelassen und intravenös injiziert. Auf eine Agarkultur 0,3 ccm Serum.

Kan.	1920	$^1/_{10}$	Kultur der Kultur-Serummischung		Tod innerhalb 24 St.		
„	1920	$^1/_3$	„ „ „		„ „	24 „	
„	2090	1	„ „ „		„ „	24 „	

Auch diese Versuche ergaben keine Wirkung; eine solche machte sich erst bemerkbar, als wir größere Mengen Serum verwandten.

Tabelle XX.

Bei 60° abgetötete Agarkulturen werden mit Serum vermischt $^1/_2$ Stunde bei 37° gelassen und intravenös injiziert. Auf eine Agarkultur 3 ccm Serum.

Kan.	1600	$^1/_{10}$	Kultur der Kultur-Serummischung	nach 2 Tagen munter, nach 7 Tagen Gewichtsabnahme 1630, nach 18 Tagen gelähmt, nach 21 Tagen tot
Kan.	1530	$^1/_2$	Kultur der Kultur-Serummischung	Tod nach 34 Stunden

Es folgt daraus schon mit Wahrscheinlichkeit, daß das Serum das Gift viel schlechter neutralisiert, wenn es in den Bacillen enthalten ist, als wenn es sich in Lösung befindet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im folgenden wurde diese Frage näher geprüft.

Tabelle XXI.

2 Stunden 60° abgetötete Agarkulturen werden mit Serum vermischt, (auf eine Kultur 0,3 ccm Serum) ½ Stunde bei 37° gelassen, dann die Bakterienleiber abzentrifugiert. Zentrifugat und Bakterienleiber für sich iv.

Kan.	1830	1/10	Kultur	abgesättigte Bacillen	Tod innerhalb	24	Stunden
„	1870	1/5	„	„ „	„ „	24	„
„	2150	1/2	„	des Zentrifugates	bleibt leben		

Die Bacillenleiber schienen also von den wirksamen Stoffen des Serums nichts an sich gebunden zu haben. Dagegen war das gelöste Gift neutralisiert worden.

Nun konnte man annehmen, daß beim Mischen von abgetöteten Kulturen mit Serum die Avidität des Serums zu dem löslichen Gift eine zu große gewesen sei, so daß die wirksamen Stoffe an die Bacillenleiber nicht herantreten konnten. Wir mischten deshalb im folgenden Versuch die bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillen mit Serum.

Tabelle XXII.

Die bei 60° extrahierten und 2mal mit Kochsalzlösung gewaschenen Bacillenleiber werden mit Serum (auf 1 Kultur 0,3 ccm) vermischt, ½ Stunde bei 37° gelassen und iv. injiziert.

Kan.	2130	1/10	Kultur	Bacillenleiber	Tod	nach	2	Tagen
„	1690	1/10	„	der Leiber-Serummischung	„	„	3	„
„	1710	1/3	„	„ „	„	„	24	Stunden
„	2020	1	„	„ „	„	„	24	„

Danach schien wieder keine Bindung des Antitoxins an die Zellen stattgefunden zu haben.

Um zu untersuchen, ob nicht doch von den Bacillenleibern Antitoxine gebunden würden, die im Tierversuch vielleicht nur nicht zur Wirkung kamen, vermischten wir Serum mit gewaschenen Bacillen und prüften das Serum nach Abzentrifugieren der Bakterienleiber auf Agglutinine und Bakteriolysine und im Tierversuch auf Antitoxine.

Tabelle XXIII.

Bei 60° extrahierte und gewaschene Bacillenleiber werden mit Serum (auf 1 Kultur 0,3 ccm) vermischt, ½ Stunde bei 37° gelassen, dann abzentrifugiert und wieder gewaschen.

Kan.	1750	1/10	Kultur	gewaschene Bacillenleiber	Tod	nach	3	Tagen
„	1650	1/2	„	„ „	„	„	24	Stunden
„	1360	1/10	„	serumgesättigte Bacillen	„	„	3	Tagen
„	1360	1/2	„	„ „	„	„	24	Stunden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das abzentrifugierte Serum wird mit 60°-Extrakt gemischt, $^1/_2$ Stunde bei 37° gelassen und iv. injiziert.

Kan.	1600	$^1/_{10}$	Kultur	Extrakt			Tod	nach	24 Stunden
„	1530	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,3 ccm	Serum	„	„	5 Tagen
„	1260	1	„	„	+ 0,3 „	„	„	„	2 „

Das abgesättigte Serum zeigt nur noch eine geringe antitoxische Wirkung, ein großer Teil ist aber verloren gegangen, der sich also mit der gewaschenen Bakterienzelle verbunden haben muß.

In einem neuen Versuch wurden nochmals geringe Mengen des gesättigten Serums gegen $^1/_{10}$ Kultur Extrakt geprüft und daneben mit denselben Extraktmengen und gleichen Verdünnungen des unbehandelten Serums ein Kontrollversuch angestellt.

Tabelle XXIV.

Das gesättigte Serum von Versuch 23 wird mit 60°-Extrakt gemischt, 2 Stunden bei 37° gelassen und iv. injiziert.

Kan.	2070	$^1/_{10}$	Kultur	Extrakt	+ 0,05 ccm	Serum	Tod	innerhalb	24 Std.
„	1860	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,05 „	„	„	„	24 „
„	3340	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,02 „	„	„	nach	2 Tagen
„	3190	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,02 „	„	„	„	24 Stunden

Unbehandeltes Serum mit Extrakt in der gleichen Weise wie vorher behandelt.

Kan.	1590	$^1/_{10}$	Kultur	Extrakt	+ NaCl		Tod	innerhalb	24 Std.
„	1650	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,05 ccm	Serum	„	nach	5 Tagen
„	1700	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,02 „	„	„	„	30 „
„	1480	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,01 „	„	„	„	2 „
„	1620	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,004 „	„	„	„	2 „
„	1710	$^1/_{10}$	„	„	+ 0,002 „	„	„	„	2 „

Wir sehen auch hier, daß das mit den Bacillenleibern abgesättigte Immunserum seine Antitoxine an die Bacillenleiber abgegeben hat und seiner neutralisierenden Wirkung beraubt ist. Dieses abgesättigte Serum agglutinierte lebende Ruhrbacillen nur noch bis zu einer Verdünnung von 1:200, während bei unbehandeltem Serum zu gleicher Zeit eine prompte Agglutination noch in einer Verdünnung von 1:2000 eintrat. Die bakteriziden Eigenschaften hatte das abgesättigte Serum gänzlich eingebüßt. Uebrigens wurden auch nach anderen Versuchen die komplementbindenden „Eiweiß-Ambozeptoren“ des Serums von den gewaschenen Bacillen an sich gerissen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus allen diesen Versuchen ergibt sich, daß die sämtlichen wirksamen Stoffe des Immunserums einschließlich der Antitoxine sich mit den abgetöteten Bacillenleibern verbinden. Trotzdem ist diese Antitoxinverbindung der Leiber selbst in kleinen Gaben giftig[1]). Woran das liegt, ist vorläufig nicht zu sagen. Möglich wäre die Vorstellung, daß die Antitoxine des Dysenterieserums mit den übrigen Immunkörpern zu festen Komplexen vereinigt, die Antitoxine also gar nicht an die Toxine der Leiber gekettet wären, sondern an andere Bestandteile. Natürlich gilt das nur für die in unseren Versuchen festgehaltene Anordnung, d. h. für Bacillenleiber, die durch mehrstündiges Erhitzen bei 60° des größten und am leichtesten zugänglichen Teiles ihrer Gifte beraubt sind. Werden die Bacillen vorsichtiger abgetötet, so bleibt vielleicht dieser zugängliche Teil der Gifte den Bacillen erhalten und wird von den Antitoxinen neutralisiert.

Fassen wir unsere Untersuchungen über die Wirkung der Dysenteriebacillen auf Kaninchen zusammen, so zeigt sich, daß die Dysenteriebacillen ein für Kaninchen außerordentlich gefährliches Gift enthalten, welches leicht an extrahierende Flüssigkeiten, schwer an die Nährflüssigkeit abgegeben wird. Dieses Gift ist gegen Temperaturen von 80—100° sehr

1) Inzwischen haben unabhängig von uns Pfeiffer und Ungermann ähnliche Ergebnisse gehabt. Sie hatten mit dem Serum von Kraus und Doerr keinen Erfolg, wenn sie bei 58° abgetötete Agarkulturen mit Serum absättigten (durch einstündiges Schütteln bei 37°), dann die Bacillen abzentrifugierten und für sich Kaninchen injizierten; es starben sämtliche Kaninchen. Zur Erklärung für dieses Phänomen nehmen sie an, daß das Toxin im Innern der Bakterienzelle gegen das Antitoxin rein mechanisch geschützt sei, was für die Endotoxinnatur des Giftes sprechen würde. Baecher und Laub erhielten bei Nachprüfung dieser Versuche aber eine schützende Wirkung gegen Bacillen, wenn sie frische Agarkulturen in Dysenterieserum aufschwemmten, die Mischung eine Stunde bei 37° schüttelten, zentrifugierten und die Bacillen injizierten. Das die doppelte letale Dosis enthaltende Sediment wurde nach Digerieren mit viel kleineren Mengen Immunserum (0,5—2,0 ccm Serum auf 1 Oese abgetötete Kultur), als sie Pfeiffer und Ungermann verwandt hatten, neutralisiert, so daß die Tiere am Leben blieben. Bei Verwendung von größeren Serummengen (2—4 ccm) war die von den Bacillen abzentrifugierte Flüssigkeit noch imstande, ihrerseits die doppelte letale Dosis abgetöteter Bacillen unwirksam zu machen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

empfindlich. Das in Lösung gehende Gift ist mit dem in den Bacillenleibern zurückbleibenden identisch und als Endotoxin aufzufassen. Durch Immunisierung von Tieren mit Dysenteriebacillen gelingt es, ein Serum herzustellen, welche das gelöste Gift in vielfach tödlichen Gaben zu neutralisieren vermag. An die Bacillenleiber kann das Antitoxin sich ebenfalls binden, ohne sie aber ungiftig zu machen.

Meerschweinchengifte.

Eine spezifische Wirkung des Dysenteriegiftes und Dysenterieserums bei Meerschweinchen wird von den meisten Forschern verneint, so von Kraus und Doerr, Kolle, Heller und de Mestral, Schottelius, Bächer und Laub. Pfeiffer und Ungermann schreiben allerdings abgetöteten Kulturen eine regelmäßige Wirkung auf Meerschweinchen zu; nach ihnen war 15 mg der bei 56°[1]) abgetöteten Kultur eine sicher tötende Dosis; antitoxische Leistungen des Serums sehen auch sie nicht. Aus unseren wohl in die Tausende gehenden Versuchen an Meerschweinchen können wir hier natürlich nur eine Auswahl geben.

Bei intraperitonealer Einverleibung lebender Agarkulturen zeigen die verschiedenen Stämme der echten Dysenterie- und Pseudodysenteriebacillen recht bedeutende Unterschiede bezüglich ihrer Wirksamkeit. Die meistbenutzten Meerschweinchen von 200—250 g starben nach intraperitonealer Einverleibung akut, d. h. binnen 24 Stunden, gewöhnlich nach Gaben, die zwischen $^1/_{10}$ und $^2/_{10}$ frischer Agarkultur schwankten, einige Dysenteriestämme töteten aber erst in weit höheren Gaben, z. B. nicht einmal regelmäßig in 1—$1^1/_2$ Kulturen.

Es waren das bezeichnenderweise gerade diejenigen Stämme (Shiga und Král), die für Kaninchen am giftigsten waren. Auch einige Pseudodysenteriestämme waren wenig virulent, ein Stamm (Wilz) tötete dagegen schon in Gaben von $^1/_{50}$ Kultur. Die von uns am meisten (auch zu Kaninchenversuchen) verwendete Kultur (Förster) zeigte eine sehr regelmäßige Wirksamkeit ($^1/_{10}$ Kultur). Während der

1) Die Erhitzung unter 60° tötet nicht mit Sicherheit alle Individuen einer Kultur, wurden deshalb von uns meist nicht angewandt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

akute Tod gewöhnlich unter Infektion, d. h. Vermehrung der eingeführten Bakterien stattfand, erfolgte er später meist durch eine Vergiftung, und zwar genügten dazu schon sehr viel geringere Gaben. Eine bestimmte Grenze dafür nach unten läßt sich schwer angeben. Selbst in 10—20mal kleineren Gaben, die noch dazu subkutan verabreicht waren, haben wir Meerschweinchen nach Wochen zugrunde gehen sehen. Doch ist das Ergebnis sehr verschieden. Die Krankheitserscheinungen bestanden hier nur in Abmagerung; die akuten waren die der gewöhnlichen sogenannten Endotoxinvergiftung, die man bei vielen anderen Bakterien kennt.

Die weiteren Versuche betrafen zunächst abgetötete Kulturen. Bei intraperitonealer Einverleibung von bei 60° 1 bis 2 Stunden erhitzten Agarkulturen bedarf man im allgemeinen $^1/_2$—1 Agarkultur, um den Tod binnen 24 Stunden herbeizuführen. Die Erscheinungen sind die gleichen wie bei der akuten Infektion. Bei subkutaner Impfung oder bei intraperitonealer Impfung größerer Tiere ist die Wirkung verzögert und nicht so sicher. Von den Stämmen Král und Shiga waren wieder sehr viel größere Mengen nötig. Kleine Gaben erhitzter Kulturen töteten wie die lebenden, wenn auch seltener Meerschweinchen durch Marasmus.

Wir versuchten nun festzustellen, ob die wirksamen Stoffe bei der 2-stündigen Sterilisierung bei 60° in die Extraktionsflüssigkeit übergingen und wie sich die extrahierten Bacillenleiber verhielten. Einige dieser Versuche folgen hier.

Tabelle XXV.

Die bei 60° 2 Stunden extrahierten Agarkulturen werden scharf zentrifugiert, der keimfreie Extrakt wird intraperitoneal injiziert.

Me. 345	$^1/_2$ Kultur	keine deutliche Wirkung	
„ 295	1 „	nimmt ab bis 245, lebt. Temperatur am anderen Tage herunter bis 34,5°, am 2. Tage 38°.	
„ 200	1 „	Tod nach 7 Tagen	
„ 305	2 Kulturen	„ „ 10 „	195, Temperatur am anderen Tage 34°, am zweiten 36°.
„ 220	2 „	„ nach 12 Tagen	
„ 180	1 Kultur	„ „ 24 Stunden	
„ 200	1 „	„ „ 24 „	
„ 250	2 Kulturen	„ „ 12 „	
„ 230	2 „	„ „ 24 „	
„ 250	2 „	„ „ 24 „	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei diesen Versuchen machten wir die Erfahrung, daß die Flüssigkeitsmenge eine gewisse Rolle spielt. Anfangs schwemmten wir die Kulturen in mehreren Kubikzentimetern Kochsalzlösung auf, wobei die Wirkung der Extrakte eine sehr unsichere war und wir fast regelmäßig 2 Kulturen brauchten, um den Tod der Tiere herbeizuführen. Als wir die eine Kultur in $^1/_2$—1 ccm aufschwemmten, genügte stets eine oder höchstens zwei Kulturen, um eine akute Wirkung zu bekommen. Man könnte sich vorstellen, daß die Verlangsamung der Resorption bei großen Flüssigkeitsmengen den mangelhaften Erfolg verursacht.

Subkutan einverleibt waren wieder etwas größere Mengen des Extraktes nötig. Manchmal tötete aber schon eine Kultur.

Während nach diesen Versuchen eine Extraktmenge von 1—2 Kulturen Förster akut tötete, waren von dem Extrakt des Stammes Král wieder weit mehr erforderlich. Man sieht daraus, daß von diesen Extrakten selbst die 10000-fache Menge derjenigen Gaben, die Kaninchen vergifteten, bei Meerschweinchen noch nicht tödlich war.

Me. 310	ip. 3	Kulturen	60°-Extrakt	Král	Tod	nach	27	Tagen
„ 275	„ 6	„	60°	„	„	„	„	8	„

Die bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillenleiber waren in der gleichen Menge wirksam wie der Extrakt; es wird also das für Meerschweinchen wirksame Gift nicht so leicht bei der Extraktion abgegeben wie das Kaninchengift.

Tabelle XXVI.

Die bei 60° 2 Stunden extrahierten und zweimal mit Kochsalzlösung gewaschenen Bacillenleiber intraperitoneal injiziert.

Me. 200	$^2/_{10}$	Kultur	Tod	nach	24	Tagen
„ 200	$^4/_{10}$	„	„	„	2	„
„ 190	1	„	„	„	24	Std.
„ 220	2	Kulturen	„	„	24	„
„ 240	5	„	„	„	24	„

Subkutan injiziert, war die Wirkung etwas verlangsamt.

Me. 190	$^2/_{10}$	Kultur	subkutan	lebt
„ 150	$^4/_{10}$	„	„	„
„ 170	1	„	„	Tod nach 7 Tagen

Um was für ein Gift es sich bei der Wirkung auf Meerschweinchen handelt, ergibt sich mit Wahrscheinlichkeit zu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nächst schon daraus, daß auch die Wärmeextrakte vieler anderer Bakterien auf die Meerschweinchen ganz ähnlich einwirken. So liefern viele Pseudodysenteriebacillen ein für Meerschweinchen fast gleiches Gift wie die echten Dysenteriebacillen; natürlich findet man auch größere Unterschiede, da ja die echten Dysenteriebacillen in ihrer Giftwirkung selbst nicht alle gleich sind, wie wir oben gesehen haben. Ebenso kann man auch mit den Extrakten von Typhusbacillen u. a. den Tod der Meerschweinchen unter gleichen Erscheinungen mit denselben Gaben wie die bei dem Dysenteriegift beobachteten herbeiführen.

Me.	250	ip.	1 Kultur	Typhusbacillen	60°-Extrakt	lebt
„	250	„	2 Kulturen	„	60° „	Tod nach 12 Std.

Was nun die Erscheinungen betrifft, unter denen die Tiere eingehen, so entsprechen sie offenbar der Endotoxinvergiftung. Die Tiere sterben unter starkem Temperaturabfall mit serösem Exsudat im Peritoneum meist binnen 24 Stunden. Wenn sie den ersten Tag überstehen, können sie noch später unter Abmagerung mit leukocytenreichem peritonealen Exsudat zugrunde gehen. Es geschieht dies aber nach Injektion von keimfreiem Extrakt seltener, als wenn die Tiere mit den lebenden Bacillen, mit den ganzen abgetöteten Kulturen oder mit den Leibern allein vergiftet sind.

Das ist aber zunächst doch kein Grund, anzunehmen, daß das Extraktgift von dem in den Bakterienleibern zurückbleibenden verschieden sei, denn man könnte sich ja vorstellen, daß die allmähliche Auslaugung der Gifte aus den Bacillen die chronische Vergiftung erklärt. Dagegen können wir mit Sicherheit sagen, daß das für Meerschweinchen wirksame Gift ein anderes wie das für Kaninchen so verderbliche ist. Zu dieser Annahme zwingt uns außer dem wiederholt betonten gegensätzlichen Verhalten der einzelnen Ruhrstämme für Kaninchen und Meerschweinchen die Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchengiftes gegen höhere Temperaturen. Bei den Kaninchenversuchen haben wir gesehen, daß das durch Extraktion gewonnene Kaninchengift beim Kochen sehr schnell vernichtet wird, und daß nach 10 Minuten langem Kochen 160 tödliche Dosen erforderlich waren, um Kaninchen zu

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

töten, nach 2-stündigem Kochen sogar 400. Demgegenüber büßt das Meerschweinchengift durch kürzeres Kochen nur etwa die Hälfte seiner Wirksamkeit ein, durch längeres etwas mehr. Erst wenn das Kochen noch durch Erhitzung unter höherem Druck ergänzt wird, sieht man sehr viel schwächere Wirkungen.

Me. 290, 1 Kultur Aufschwemmung 10 Minuten gekocht: nimmt ab bis 240, lebt, Temperatur am anderen Tage bis 32°.

Me. 515, 1 Kultur Aufschwemmung 2 Stunden gekocht: keine Wirkung.

Me. 280, 10 Kulturen Extrakt von 2 Stunden gekochter Aufschwemmung: Tod innerhalb 24 Stunden, Temperatur abends 34°.

Me. 265, $2^1/_2$ Kulturen Extrakt von 5 Stunden gekochter Aufschwemmung: Tod innerhalb 24 Stunden unter Temperaturabfall.

Me. 345, 5 Kulturen von dem gleichen Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden unter starkem Temperaturabfall.

Me. 235, $2^1/_2$ Kulturen von dem gleichen Extrakt subkutan: lebt, Temperaturerhöhung, Injektionsstelle ulceriert.

Me. 300, 25 Kulturen Extrakt von Aufschwemmungen, die 6 Stunden gekocht und noch 3 Stunden im Papinschen Topf bei 120° sterilisiert waren: nimmt ab bis 235, am 4. Tage noch 50 Kulturen desselben Extraktes, lebt, Temperaturerhöhung.

Die extrahierten und gewaschenen Bacillenleiber sind ebenso widerstandsfähig gegen längeres Kochen.

Me. 325, $7^1/_2$ Kulturen gewaschene Bacillenleiber von 2 Stunden gekochten Aufschwemmungen: Tod innerhalb 24 Stunden, Temperatur abends 34°.

Me. 300, $7^1/_2$ Kulturen gewaschene Bacillenleiber von 5 Stunden gekochten Aufschwemmungen: Tod nach 2 Tagen, Temperatur am anderen Tage bis 34°.

Me. 250, 75 Kulturen gewaschene Bacillenleiber von 6 Stunden gekochten und 3 Stunden bei 120° gehaltenen Aufschwemmungen: Tod nach 20 Stunden unter starkem Temperaturabfall.

Aus den bereits einmal bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillen kann man durch nochmaliges Extrahieren bei denselben oder höheren Temperaturen weitere Mengen eines ziemlich wirksamen Extraktes gewinnen, ohne daß die Bacillen dabei viel an ihrer Giftigkeit einbüssen.

Die schon einmal bei 60° 2 Stunden extrahierten und gewaschenen Bacillen werden nochmals 2 Stunden bei 60° extrahiert, zentrifugiert und gewaschen. Extrakt und Bacillenleiber werden für sich intraperitoneal injiziert.

Me. 260	2	Kulturen	Extrakt	Tod	nach	8	Tagen
„ 250	3	„	„	„	„	9	„
„ 280	4	„	„	„	„	9	„
„ 300	3	„	Bacillenleiber	„	„	24	Std.

Me. 325, $2^1/_2$ Kulturen 24 Stunden bei 60° extrahierte und gewaschene Bacillen: Tod nach 7 Tagen.

Me. 340, 5 Kulturen dieser Bacillenleiber: Tod innerhalb 24 Stunden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die 3 Stunden bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillen werden noch 10 Minuten gekocht, diese Aufschwemmung mit den Bacillen und das Extrakt hieraus werden für sich intraperitoneal injiziert.

Me. 425, 2½ Kulturen dieser Aufschwemmung: Tod nach 24 Stunden, langsamer Temperaturabfall.

Me. 360, 4 Kulturen dieser Aufschwemmung: Tod nach 48 Stunden, langsamer Temperaturabfall.

Me. 265, 5 Kulturen dieser Aufschwemmung: Tod nach 18 Stunden, starker Temperaturabfall.

Me. 475, 2 Kulturen des Extraktes: lebt, geringe Gewichtsabnahme.
Me. 485, 3 „ „ „ „ „ „
Me. 495, 6 „ „ „ „ „ „

Die zweimal bei 60° extrahierten Bacillen werden noch 3 Stunden gekocht, zentrifugiert und gewaschen. Extrakt hieraus und Bacillenleiber für sich intraperitoneal injiziert.

Me. 260	5 Kulturen	Extrakt	Tod nach	24 Stunden
Me. 260	„	Bacillenleiber	„ „	3 Tagen

Die 3 Stunden bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillen werden nochmals 6 Stunden gekocht. Das Extrakt hiervon intraperitoneal injiziert.

Me. 300, 2½ Kulturen des Extraktes: Tod nach 18 Stunden unter Temperaturabfall.

Me. 310, 1¼ Kulturen des Extraktes: bleibt leben, kein Temperaturabfall.

Me. 240, 5 „ „ „ Tod nach 20 Stunden mit Temperaturabfall.

Die Versuche, die wirksame Substanz zu trocknen oder durch Fällung mit Alkohol zu reinigen, ergaben stärkere Abschwächungen.

Die 6 Stunden gekochte Bacillenmasse wird mit den Bacillen zu Syrup eingedampft und mit Alkohol gefällt; der Niederschlag wird in Wasser gelöst und wieder eingedampft.

Me. 315	intraperitoneal	2½ Kulturen	Tod nach	18 Tagen
Me. 250	„	5 „	„ „	23 „

Ein Teil des Alkoholniederschlages wird aufbewahrt und nach 14 Tagen in Kochsalzlösung aufgelöst injiziert.

Me. 230, 22 Kulturen intraperitoneal: Tod innerhalb weniger Stunden, Temperatur 28°.

Me. 245, Kulturen subkutan: Tod nach 15 Stunden, Temperatur 30°.

Me. 300, 2½ Kulturen 60°-Extrakt bei 60° eingedampft und wieder gelöst intraperitoneal: Tod nach 12 Tagen 200.

Me. 310, 2 Kulturen desselben Extraktes intraperitoneal: Tod nach 5 Wochen 220.

Me. 300, 2½ Kulturen, der Extrakt bei 60° eingedickt, mit Alkohol gefällt, der Niederschlag wieder in Wasser aufgelöst intraperitonal: Tod innerhalb 24 Stunden. (Hier ist eine besondere Disposition des Tieres anzunehmen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der 60°-Extrakt wird mit Alkohol gefällt, der Niederschlag wieder aufgelöst intraperitoneal injiziert.

Me. 450	$2^1/_2$	Kulturen	nimmt ab, lebt
Me. 300	4	„	„ ab bis 255, lebt
Me. 260	5	„	„ „ „ 255 „
Me. 295	10	„	Tod nach 3 Tagen 195

Die angeführten Versuche beweisen zur Genüge, daß wir es bei dem für Meerschweinchen wirksamen Gift mit einem gegen Erhitzung sehr widerstandsfähigen Gift zu tun haben.

Es entsteht nun die Frage, ob dieses Gift, welches wir als ein Endotoxin auffassen müssen, dasjenige sei, welches auch bei der Infektion mit lebenden Ruhrbacillen die Meerschweinchen tötet. Da die Infektion ganz ähnlich verläuft wie die mit vielen anderen Bakterien, z. B. Typhus- Cholerabacillen, konnte man geneigt sein, die bekanntlich von Pfeiffer und Radziewsky vertretene Theorie, nach der die Ursache der tödlichen Vergiftung die beim Zugrundegehen der Bakterien freiwerdenden Endotoxine sein sollen, auch für die Ruhr anzunehmen. Nach den umfassenden Untersuchungen, die Professor Kruse im Verein mit Pane, Lotti und Hösch über die intraperitoneale und subkutane Infektion am Meerschweinchen mit lebenden Ruhrbacillen, Choleravibrionen u. a. angestellt haben, liegen die Dinge doch nicht so einfach, wie man es hingestellt hat. Sicher ist zunächst, daß viel kleinere Gaben sowohl lebender als toter Bacillen akute oder chronische Vergiftung der Meerschweinchen herbeiführen.

Nun könnte man annehmen, wie es Pfeiffer früher bei der Cholera getan, daß die Erhitzung oder unsere sonstigen künstlichen Abtötungsmethoden das „primäre“ Leibesgift der Bakterien in ein schwächer wirksames, „sekundäres“ umwandelten. Daß dergleichen vorkommt, läßt sich nicht widerlegen, ja es scheint durch die Tachen bestätigt zu werden, daß Fortsetzung und Steigerung der Erhitzung die Giftwirkung der Endotoxine herabsetzt. Ist die Voraussetzung dann aber richtig, daß nur beim Absterben der Bakterien, sei es in der Bauchhöhle oder von dem Unterhautgewebe aus, die gefährlichen Stoffe frei werden, daß es also beim Meerschweinchen nur die Endotoxine in dem gewöhnlichen Sinne des Wortes sind? Wenn dem so wäre, müßte doch die Vergiftung bei der Infektion um so schneller eintreten, je mehr Bakterien

Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

im Körper zugrunde gehen. Tatsächlich führt aber die Infektion mit sehr großen Gaben, bei der die Bakterien gut wachsen oder wenigstens längere Zeit am Leben bleiben, durchschnittlich schneller zum Tode, als die mit mittleren eben noch tödlichen Gaben, bei denen von Anfang an eine deutliche Abnahme der Bakterien erfolgt. Es macht das doch den Eindruck, als ob auch von den lebenden Bacillen tödliche Gifte abgesondert werden.

Der Einwand liegt ja freilich nahe, und ist namentlich von Radziewsky gemacht worden, daß auch bei der stärksten Infektion mit der Vermehrung der Bakterien ein Absterben Hand in Hand ginge. In gewissem Grade trifft dies auch nach unseren Erfahrungen zu. Pane und Lotti gelang es aber nicht, mit Hilfe der von Radziewsky angegebenen mikroskopischen Untersuchungsmethode, die Vernichtung der Bakterien in der für die Annahme der Endotoxintheorie notwendigen Ausdehnung nachzuweisen, und auch die verhältnismäßig spärliche Resorption ins Blut kann, selbst wenn man, wie man wohl Grund hat, voraussetzt, daß die ins Blut gelangten Bakterien der Vernichtung verfallen, nicht diesen Mangel ersetzen. Der Beweis, daß die Vergiftung bei der Infektion nur von den zugrunde gehenden Bakterien ausgeht, fehlt also. Nehmen wir umgekehrt an, daß auch die lebenden Bakterien imstande seien, unter Umständen Gift auszuscheiden, so fragt sich wieder, welcher Art dies ist. Bei der Ruhrinfektion der Meerschweinchen kommt das von anderen Forschern so genannte echte „Toxin“, das für Kaninchen so gefährlich ist, wie wir gesehen haben, nicht in Betracht. Ist es nun ein anderes unbekanntes Toxin oder Sekretionsgift, oder wird das von uns künstlich nach Erhitzung der Bakterien gewonnene Endotoxin etwa auch schon während des Lebens von den Bakterien ausgeschieden? Eine Antwort darauf läßt sich vorläufig nicht geben. Immerhin zeigen unsere Versuche, gegen das Meerschweinchengift der Ruhrbacillen zu immunisieren, daß man verschiedene Ergebnisse erhält mit dem Extraktgift und den ausgezogenen Leibern. Gegen das letztere ließ sich Antitoxin darstellen, gegen das erstere nicht (s. unten). Stellte man sich vor, daß das künstlich leicht extrahierbare Gift unter Umständen schon während der Infektion aus den

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lebenden Bacillen ausgeschieden würde, so hätten wir eine Erklärung für die Erscheinungen der infektiösen Vergiftung, die durch Immunserum nicht bekämpft werden können. Wir gehen nach dieser Abscheifung zu unseren Immunisierungsversuchen gegen das Meerschweinchengift über.

Zunächst kommen die Versuche, das Extrakt- und Leibesgift durch Zugabe von Immunserum unschädlich zu machen.

Tabelle XXVII.

Der durch 2-stündiges Erwärmen bei 60° gewonnene keimfreie Extrakt wird mit Kochsalzlösung bezw. Immunserum vermischt, 1 Stunde bei 37° gelassen und ip. injiziert.

Me.	200	½	Kultur	+ 1 ccm	NaCl	lebt
„	200	1	„	+ 1 „	„	lebt
„	220	2	„	+ 1 „	„	Tod n. 12 Tagen (Fremdinfekt.)
„	190	½	„	+ 1 „	Immunserum	lebt
„	190	1	„	+ 1 „	„	lebt
„	220	2	„	+ 1 „	„	Tod nach 24 Stunden

Es zeigt sich hier kein Vorteil gegenüber den Serumtieren, im Gegenteil starb das Serumtier bei der größten Giftgabe schnell, während das Kontrolltier erst nachträglich an Fremdinfektion zugrunde ging.

Tabelle XXVIII.

Die 2 Stunden bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillen werden nochmals 2 Stunden bei 60° extrahiert. Der Extrakt hieraus wird mit Serum vermischt, 1 Stunde bei 37° gelassen und ip. injiziert.

Me.	260	2	Kulturen	+ 1 ccm	NaCl	Tod nach 8 Tagen
„	250	3	„	+ 1 „	„	„ „ 9 „
„	280	4	„	+ 1 „	„	„ „ 9 „
„	260	2	„	+ 1 „	Immunserum	lebt
„	250	4	„	+ 1 „	„	lebt
„	270	4	„	+ 1 „	„	Tod nach 7 Tagen

Bei dem zweiten Extrakte zeigte sich also eine deutliche Wirkung zugunsten der Serumtiere, die meist überlebten und ferner weit geringere Gewichtsverluste aufwiesen.

Die zweimal extrahierten Bacillen werden noch 3 Stunden gekocht. Der Extrakt hiervon wird mit Serum vermischt, 1 Stunde bei 37° gelassen und ip. injiziert.

Me.	260	5	Kulturen	+ 1 ccm	NaCl	Tod nach 24 Stunden
„	280	5	„	+ 1 „	Immunserum	lebt

Auch bei dem dritten Extrakt war das Serumtier bedeutend im Vorteil.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XXIX.

Die 2 Stunden bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillenleiber werden mit Immunserum vermischt, 1 Stunde bei 37° gelassen und ip. injiziert.

Me.	210	½	Kultur	+ 1	ccm	NaCl	lebt
„	210	1	„	+ 1	„	„	Tod nach 8 Tagen
„	200	1	„	+ 1	„	„	lebt
„	220	2	„	+ 1	„	„	Tod nach 24 Stunden
„	200	2	„	+ 1	„	„	„ „ 6 Tagen
„	220	3	„	+ 1	„	„	„ „ 24 Stunden
„	230	4	„	+ 1	„	„	„ „ 6 Tagen
„	190	½	„	+ 1	„	Immunserum	lebt
„	210	1	„	+ 1	„	„	„
„	200	1	„	+ 1	„	„	„
„	210	2	„	+ 1	„	„	Tod nach 15 Tagen [1])
„	200	2	„	+ 1	„	„	lebt
„	220	3	„	+ 1	„	„	„
„	230	4	„	+ 1	„	„	„

Die in den ausgewaschenen Leibern nach der ersten Erhitzung stecken gebliebenen Gifte werden offenbar durch das Immunserum stark beeinflußt. Das lehrt nicht nur das Fehlen der Todesfälle, sondern bei den Gaben, die auch für die Kontrolltiere nicht tödlich waren, die in der Uebersicht nicht wiedergegebenen Gewichtskurven, die bei den Serumtieren nicht so tief abfielen und früher wieder aufstiegen.

Die zweimal bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillenleiber werden mit Immunserum vermischt, 1 Stunde bei 37° gelassen und ip. injiziert.

Me.	300	3	Kulturen	+ 1	ccm	NaCl	Tod nach 24 Stunden
„	300	3	„	+ 1	„	Immunserum	„ „ 25 Tagen

Die zweimal bei 60° extrahierten, dann 3 Stunden gekochten und gewaschenen Bacillenleiber werden mit Immunserum vermischt 1 Stunde bei 37° gelassen und ip. injiziert.

Me.	260	3	Kulturen	+ 1	ccm	NaCl	Tod nach 3 Tagen
„	240	3	„	+ 1	„	Immunserum	lebt

Auch die zweimal oder dreimal ausgezogenen Leiber werden also durch das Serum entgiftet.

Nach diesen Versuchen wirkt unser Immunserum bei unmittelbarer Berührung auf den ersten für Meerschweinchen giftigen Extrakt der Ruhrbacillen so gut wie gar nicht ein,

1) Dieses Tier starb noch nachträglich, nachdem es vorher schon wieder zugenommen hatte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deutlich aber auf das zweite und dritte Extraktgift, sowie besonders auf die nach ein- oder mehrmaligem Ausziehen der Leiber zurückgebliebenen Gifte. Wir können danach in den Ruhrbacillen zwei „Meerschweinchengifte“ unterscheiden, ein leicht lösliches, das von Immunserum nicht beeinflußt wird und ein schwer lösliches, das von ihm entgiftet wird.

Des weiteren suchten wir festzustellen, ob eine Schutzwirkung des Serums gegenüber Meerschweinchen bei vorheriger Einverleibung desselben zutage trat.

Tabelle XXX.

Der durch 2-stündiges Erwärmen bei 60° gewonnene Extrakt wird ip. oder sk. injiziert und vorher Immunserum subkutan (an anderer Stelle).

Me.	180	ip.	1	Kultur	Tod	nach	24	Stunden						
„	200	sk.	1	„	„	„	24	„						
„	210	„	2	„	„	„	24	„						
„	210	„	3	„	„	„	24	„						
„	180	1	ccm	Immunser.	nach	24	Std.	ip.	1	Kultur	Tod	nach	24	Std.
„	190	1	„	„	„	24	„	„	2	„	„	„	24	„
„	200	1	„	„	„	24	„	sk.	1	„	„	„	24	„
„	190	1	„	„	„	24	„	„	2	„	„	„	24	„
„	190	1	„	„	„	24	„	„	3	„	„	„	24	„

Bei den mit Serum geschützten trat also ebenso schnell wie bei den Kontrolltieren die Vergiftung durch den Extrakt ein.

Tabelle XXXI.

Die 2 Stunden bei 60° extrahierten und gewaschenen Bacillen werden ip. oder sk. injiziert, 24 Stunden vorher Immunserum subkutan (an anderer Stelle).

Me.	200	ip.	$^2/_{10}$	Kultur	Tod	nach	24	Stunden						
„	200	„	$^4/_{10}$	„	„	„	2	Tagen (an Fremdinfektion)						
„	190	„	1	„	„	„	24	Stunden						
„	190	sk.	$^2/_{10}$	„	lebt									
„	150	„	$^4/_{10}$	„	lebt									
„	170	„	1	„	Tod	nach	7	Tagen						
„	190	ip.	1	ccm	Immunser.	nach	24	Std.	$^2/_{10}$	Kultur	lebt			
„	180	„	1	„	„	„	24	„	$^4/_{10}$	„	lebt			
„	220	„	1	„	„	„	24	„	1	„	Tod n. 2 Tag. (an Fremdinfektion)			
„	200	sk.	1	„	„	„	24	„	$^2/_{10}$	„	lebt			
„	210	„	1	„	„	„	24	„	$^4/_{10}$	„	lebt			
„	190	„	1	„	„	„	24	„	1	„	lebt			

Leider wurde diese Versuchsreihe durch das nicht aufgeklärte Zwischentreten einer Fremdinfektion mit Schleim-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Streptokokken gestört. Es scheint aber das Immunserum hier eine Schutzwirkung gegenüber den Bacillenleibern entfaltet zu haben, denn bei Ausschluß der infizierten Tiere starb von den 5 Serumtieren kein einziges, während von den Kontrolltieren zwei eingingen.

Schließlich können wir uns aber zum Beweise einer antitoxischen Heilwirkung des Immunserums auf eine ganze Reihe von älteren Versuchen beziehen, die Prof. Kruse 1902 und 1903 an Meerschweinchen mit lebenden Ruhrbacillen angestellt hat. Ein solcher wurde schon in der ersten Arbeit über die Blutserumtherapie bei Dysenterie (Deutsche med. Wochenschr., 1903, No. 1) veröffentlicht.

Fünf große Meerschweinchen von 560—685 g empfingen an vier aufeinanderfolgenden Tagen die gleiche Gabe Ruhrbacillen unter die Haut des Bauches, die drei kleineren unter ihnen erhielten noch 48—55 Stunden nach der ersten Infektion je 1 ccm Ruhrserum unter die Haut des Rückens. Nur die beiden Kontrolltiere starben nach 7 bezw. 10 Tagen unter starkem Gewichtsverlust. Kruse hat seinerzeit diesen Erfolg als Beweis für die antiinfektiöse Wirkung des Ruhrserums aufgefaßt; die letztere wird ja auch durch zahlreiche, in ihrer Deutung nicht zweifelhafte intraperitoneale Tierversuche gestützt. Im Verfolge seiner Ruhruntersuchungen hat Prof. Kruse aber die Ueberzeugung gewonnen, daß die lebenden unter die Haut eingespritzten Ruhrbacillen in den hier zur Verwendung kommenden Gaben schon nach 24 Stunden, ohne sich vorher vermehrt zu haben, fast völlig abgestorben sind, die genannten Versuche also eigentlich nur als Vergiftungen angesehen werden können, bei denen offenbar das schwerer lösliche Meerschweinchengift der Ruhrbacillen hauptsächlich zur Wirkung gelangt und das Immunserum Heilwirkung entfaltet. Da noch vier derartige Versuche, bei denen aber die vergiftenden Gaben der Ruhrbacillen auf einmal gegeben worden und das Immunserum also wohl überhaupt nicht mehr mit lebenden Bacillen in Berührung gekommen war, seinerzeit ähnlich ausgefallen sind, haben wir darauf verzichten können, die Heilversuche zu wiederholen. Nach einigen Kontrollversuchen mit normalem Pferdeserum war dieses ohne Wirkung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hundegift.

In der Literatur findet man bezüglich der Einwirkung der Dysenteriebacillen und ihrer Gifte auf Hunde verschiedene Angaben. Shiga, Conradi, Dopter und Vaillard, Doerr bemerkten z. B. nach Injektion lebender oder abgetöteter Dysenteriekulturen hämorrhagische Entzündungen der Darmschleimhaut, die sich meist, aber nicht ausschließlich, im Dickdarm zeigen sollten. Die nach Injektion lebender Kulturen auftretenden Darmerscheinungen führen Dopter und Vaillard auf die lokale Einwirkung lebender Dysenteriebacillen, welche sich auf der Darmschleimhaut ansiedeln sollen, zurück. Doerr bestritt letzteres, allerdings nur für Kaninchen.

Für unsere Versuche an Hunden kamen mehrere Gesichtspunkte in Betracht. Zuerst suchten wir Aufschluß über die Wirkung der Dysenteriekulturen im lebenden oder abgetöteten Zustande zu bekommen. Da wir viel öfter als beim Kaninchen einen ruhrähnlichen Befund im Darm erhielten, prüften wir die Frage, wie sich die lebenden Bacillen zum Darm verhielten, besonders genau, und zwar bei verschiedenen Arten der Einverleibung und Kombination mit Vergiftung. Auch das Verhalten der Darmbakterien bei der Vergiftung wurde berücksichtigt. Als sich herausstellte, daß die lebenden Ruhrbacillen mit den Darmerscheinungen der Hunde nichts zu tun hatten, und daß letztere mehr mit den Erscheinungen Aehnlichkeit hatten, die Bergmann schon vor Jahren als Sepsinvergiftung bezeichnet hat, untersuchten wir auch die Wirkung anderer Bakterien und ihrer Gifte auf den Darm des Hundes.

Betrachten wir zunächst die Versuche mit lebenden Ruhrbacillen. Die Bacillen wurden wie das Gift intravenös eingeführt. Einige Versuche zeigten uns, daß auch von der Bauchhöhle, und bei erheblich größeren Gaben auch von der Unterhaut aus die Vergiftung gelingt.

Hund 1, Rehpinscher, 3870, iv. $^1/_2$ Kultur lebend: Tod nach 9 Stunden, vom Pylorus bis zum Dickdarm hämorrhagische Enteritis. In Darmschleimhaut und Darminhalt keine Ruhrbacillen nachweisbar.

Hund 2, Spitz, 4550, iv. $^1/_{10}$ Kultur lebend: Tod in der Nacht, im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis. Keine Ruhrbacillen nachweisbar.

Hiernach genügt die intravenöse Einverleibung von $^1/_{10}$ lebender Dysenteriekultur, um den Tod unter dem Bilde einer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

starken hämorrhagischen Enteritis herbeizuführen. In späteren Versuchen (s. u.) war dies aber nicht immer möglich, so daß erst wiederholte gleiche Gaben töteten.

Mit dem durch zweistündiges Erwärmen bei 60° gewonnenen Extrakt gelang es, dieselben Darmerscheinungen hervorzurufen, doch sind wohl etwas größere Gaben dazu erforderlich. Bei einigen der diesbezüglichen Versuche wurde die Zahl der Bakterien festgestellt, indem aus verschiedenen Teilen des Darmtraktus eine Platinöse des Darminhaltes zu Zählplatten verarbeitet wurde.

Hund 3, Spitz, 4800, iv. $^1/_2$ Kultur 60°-Extrakt: wird uach 24 Stunden getötet, im Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 4, Fox, 5720, iv. $^1/_4$ Kultur 60°-Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden, keine hämorrhagische Enteritis, am Coecum Invagination mit leicht blutigem Stuhl.

Hund 5, Fox, 5720, iv. 1 Kultur 60°-Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden, hämorrhagische Enteritis, im Duodenum und Dickdarm am stärksten, im Duodenum Nekrosen.

Hund 6, Fox, 4750, 1 Kultur 60°-Extrakt: wird nach 24 Stunden getötet, hämorrhagische Enteritis.

Hund 7, Teckel, 5200, iv. $1^1/_4$ Kultur 60°-Extrakt: Tod nach $1^1/_2$ Tagen, hämorrhagische Enteritis. Reaktion der Magenschleimhaut schwach sauer, der Darmschleimhaut alkalisch,

in 1	Oese	Mageninhalt	∞	Keime
„ 1	„	Duodenuminhalt	∞	„
„ 1	„	Ileuminhalt	∞	„
„ 1	„	Coecuminhalt	∞	„
„ 1	„	Dickdarminhalt	∞	„

Hund 8, 9000 2 Kulturen 60°-Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden, blutiger Stuhl, hämorrhagische Enteritis.

Hund 9, Spitz, 11 000, iv. 2 Kulturen 60°-Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden, Dickdarm und Duodenum hämorrhagische Enteritis, im Dünndarm nur wenig Blut.

Hund 10, Fox, 5650, iv. 2 Kulturen 60°-Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden, im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 11, Spitz, 4620, iv. $2^1/_2$ Kulturen 60°-Extrakt: Tod nach 24 Stunden, in den oberen Darmpartien blutiger Schleim,

in 1	Oese	Mageninhalt	500 000	Keime
„ 1	„	Duodenuminhalt	150 000	„
„ 1	„	Ileuminhalt	100 000	„
„ 1	„	Coecuminhalt	500 000	„
„ 1	„	Dickdarminhalt	60 000	„

Hund 12, Fox, 4400, ip. 4 Kulturen 60°-Extrakt: Tod innerhalb 24 Stunden, hämorrhagische Enteritis, Duodenum und Jejunum am stärksten, Ileum und Coecum schwächer,

in 1	Oese	Mageninhalt	120 000	Keime
„ 1	„	Duodenuminhalt	25 000	„
„ 1	„	Ileuminhalt	15 000	„
„ 1	„	Coecuminhalt	180 000	„
„ 1	„	Dickdarminhalt	220 000	„

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Hund 13, Dackel, 4770, iv. 5 Kulturen 60°-Extrakt: am nächsten Morgen sehr krank, wird getötet, im Dickdarm starke hämorrhagische Enteritis, im Jejunum schwächer, Ileum frei.

Die bei 60° extrahierten und dann gewaschenen Bacillen waren ebenfalls stark giftig.

Hund 14, Fox, 3450, iv. 5 Kulturen bei 60° extrahierte und gewaschene Bacillen, Tod nach 3 Stunden, im Darm kein Befund,

in	1	Oese	Mageninhalt	6 000 Keime
„	1	„	Duodenuminhalt	150 „
„	1	„	Ileuminhalt	500 „
„	1	„	Coecuminhalt	7 000 „
„	1	„	Dickdarminhalt	18 000 „

Hund 15, Fox, 7300, iv. 5 Kulturen bei 60° extrahierte und gewaschene Bacillen: Tod nach 24 Stunden, im Duodenum und oberen Teil des Jejunum etwas blutiger Schleim, weiter unten kein Befund,

in	1	Oese	Mageninhalt	180 000 Keime
„	1	„	Duodenuminhalt	300 000 „
„	1	„	Ileuminhalt	zahllose „
„	1	„	Coecuminhalt	„ „
„	1	„	Dickdarminhalt	„ „

Durch 10 Minuten langes und noch längeres Kochen wird der bei 60° gewonnene Extrakt nicht unerheblich geschädigt und das Auftreten der Darmerscheinungen schien weniger beständig zu sein.

Hund 16, 6920, iv. 1¼ Kultur 60°-Extrakt 10 Minuten gekocht: nach 20 Stunden getötet, im Darm kein Befund.

Hund 17, Spitz, 10 600, iv. 2½ Kulturen des 10 Min. gekochten Extraktes: wird nach 24 Stunden getötet, war nicht krank, im Darm kein Befund.

Hund 18, Colli, 3950, iv. 2½ Kulturen des 10 Min. gekochten Extraktes: Tod innerhalb 24 Stunden, hämorrhagische Enteritis.

Hund 19, Fox, 6250, 5 Kulturen des 10 Min. gekochten Extraktes: Tod in der Nacht, hämorrhagische Enteritis.

Hund 20, Fox, 5350, 5 Kulturen des 10 Min. gekochten Extraktes: wird nach 24 Stunden getötet ohne krank zu sein, im Duodenum hämorrhagische Enteritis, im unteren Darm dünnflüssiger Stuhl ohne Blut.

Hund 21, Fox, 4750, 10 Kulturen des 10 Min. gekochten Extraktes: Tod in der Nacht, hämorrhagische Enteritis.

Hund 22, 4850, iv. 10 Kulturen des 10 Min. gekochten Extraktes: wird nach 20 Stunden getötet, im Darm kein Befund.

Hund 23, Pudel, 8960, iv. 10 Kulturen 1 Stunde gekochten Extraktes: Tod abends. Im Duodenum und Dickdarm hämorrhagische Enteritis, im Dünndarm nur wenig blutiger Schleim.

Hund 24, Fox, 7250, iv. 10 Kulturen 1 Stunde gekochten Extraktes: am anderen Tage nur wenig krank. Wird nach 2 Tagen getötet; im Darm kein Befund,

in	1	Oese	Mageninhalt	3 Keime
„	1	„	Duodenuminhalt	4 „
„	1	„	Ileuminhalt	500 „
„	1	„	Coecuminhalt	7 500 „
„	1	„	Dickdarminhalt	15 000 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Bacillenleiber scheinen das Kochen besser zu vertragen.

Hund 25, Spitz, 4570, iv. 19 Kulturen 1 Stunde gekochte und gewaschene Bacillen: Tod nach $3^1/_2$ Stunden. Mageninhalt mit etwas Blut vermischt. Im Duodenum und oberen Teil des Jejunum ein wenig blutiger Schleim, weiter nach unten kein Befund,

in 1	Oese	Mageninhalt	500	Keime
„ 1	„	Duodenuminhalt	30	„
„ 1	„	Ileuminhalt	5	„
„ 1	„	Coecuminhalt	9 000	„
„ 1	„	Dickdarminhalt	100 000	„

Hund 26, Teckel, 3360, iv. 10 Kulturen 1 Stunde gekochte und gewaschene Bacillen: Tod nachts. Im Jejunum hämorrhagische Enteritis, Coecum und Ileum frei, im Dickdarm dünner Stuhl mit blutigem Schleim vermischt.

Hund 27, Fox, 5550, iv. 10 Kulturen 1 Stunde gekochte und gewaschene Bacillen: Tod nachts. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis,

in 1	Oese	Mageninhalt	4	Keime
„ 1	„	Duodenuminhalt	6	„
„ 1	„	Ileuminhalt	24	„
„ 1	„	Coecuminhalt	6000	„
„ 1	„	Dickdarminhalt	4000	„

Das in den Dysenteriebacillen enthaltene Gift, das zum Teil beim Extrahieren bei 60° in Lösung geht, zum größten Teil aber in den Bacillenleibern zurückbleibt, erzeugt außer eigentümlichen ganz akuten Erscheinungen, die vom Nervensystem auszugehen scheinen, eine hämorrhagische Enteritis, über deren Entstehungsweise wir leider völlig im Dunkeln sind.

Die Enteritis tritt einige Stunden nach der Injektion, aber anscheinend nicht vor $3^1/_2$ Stunden auf; sie ist vorwiegend in den oberen und unteren Partien des Darmtraktus, Duodenum und Jejunum und dem Dickdarm, manchmal nur im letzteren lokalisiert. Das Ileum bleibt häufig frei. Der Darminhalt erweist sich stärker alkalisch und viel keimreicher als normal. Nicht selten werden noch nekrotische Prozesse auf der blutig infiltrierten Schleimhautoberfläche beobachtet. Bei der Entstehung der Enteritis spielen Alter, Rasse u. a. m. wahrscheinlich eine große Rolle.

Die bisher angeführten Versuche waren darauf gerichtet, durch einmalige Injektion der Ruhrbacillen und ihrer Gifte die Enteritis herbeizuführen. Es galt nun noch nachzuweisen, ob man nicht durch wiederholte Einverleibung an sich nicht tödlicher Dosen bei Hunden auch die typischen Darmerscheinungen bewirken könnte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hund 28, Dackel, 8650, iv. an 2 Tagen hintereinander je $^1/_4$ Kultur lebend: Tod am 3. Tage nachmittags. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 29, 7360, iv. an 2 Tagen hintereinander je $^1/_8$ Kultur lebend: Tod am 2. Tage nachmittags. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 30, Spitz, 10500, iv. an 2 Tagen hintereinander je $^1/_4$ Kultur bei 60° abgetötet: Tod am 2. Tage abends. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 31, Dogge, 4350, iv. 6 Tage hintereinander je $^1/_{10}$ Kultur bei 60° abgetötet: Tod am Abend des 6. Tages. Invagination des Darmes, sonst kein Befund.

Hund 32, Dackel, 6100, iv. 4 Tage hintereinander steigend $^1/_4$, $^1/_2$, 1 und 2 Kulturen 60°-Extrakt: Am 5. Tage morgens blutiger Stuhl. Das Tier wird abends getötet. Im Dickdarm bis zum Appendix hämorrhagische Enteritis, im Dünndarm dünner gelber Stuhl, im Duodenum kein Befund.

Hund 33, Fox, iv. 5 Tage hintereinander steigend $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2 und 3 Kulturen 1 Stunde gekocht: Das Tier hat am 6. Tage blutig gefärbten Stuhl und ist sehr krank. Es erholt sich wieder.

Hiernach kann man auch durch mehrfache Einverleibung an sich nicht wirksamer Gaben, wenn sie schnell hintereinander beigebracht werden, die Darmerscheinungen und den Tod der Tiere erzielen.

Wie bereits oben erwähnt, gelingt es nach intravenöser Injektion lebender Dysenteriebacillen nicht, dieselben im Darm nachzuweisen; die Darmerscheinungen können also hier auch nicht durch Wuchern der Ruhrbacillen auf der Darmschleimhaut bedingt sein, sondern sind nur auf die Giftwirkung zurückzuführen.

In weiteren Versuchen prüften wir nun, ob es durch Füttern der Hunde mit lebenden Ruhrbacillen gelingen würde, eine Infektion oder Vergiftung der Tiere mit typischem Darmbefund herbeizuführen. Um die Bedingungen hierfür noch besonders günstig zu gestalten, wurden in einigen Versuchen zugleich geringe Mengen des Ruhrgiftes intravenös gegeben.

Hund 34, Dackel, 7560, iv. $^1/_3$ Kultur der bei 60° abgetöteten Aufschwemmung. Abends wird eine Agarplatte mittelst eines Pinsels auf die Rachenschleimhaut gebracht: Tod in der Nacht. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis. In Darm und Milz sind keine Ruhrbacillen nachweisbar.

Hund 35, Spitz, 10950, iv. 9 Tage hintereinander je $^1/_{10}$ Kultur der bei 60° abgetöteten Aufschwemmung. Nach jeder Injektion wird eine Agarkultur lebend verfüttert. Vom 4. Tage ab wird die Kultur ins Maul geträufelt, da das Tier nicht mehr frißt. Am 9. Tage ist das Tier so schwach, daß es nicht mehr stehen kann; wird deshalb am 10. Tage getötet. Im Darm kein Befund. In Darm und Milz sind keine Ruhrbacillen nachweisbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie man sieht, gelingt es selbst hier nicht, ein Wachstum der Ruhrbacillen auf der Darmschleimhaut oder überhaupt eine Infektion der Tiere vom Verdauungswege aus zu erzielen; die bei dem Hund 34 sich vorfindenden Darmerscheinungen sind nur auf die Wirkung des intravenös beigebrachten Giftes zurückzuführen. Die Behauptung von Vaillard und Dopter, daß sich die Dysenteriebacillen auf der Darmschleimhaut ansiedeln und von hier aus ihre deletäre Wirkung entfalten, trifft demnach nicht zu. Daß die Verhältnisse bei ganz jungen Tieren nicht anders liegen, bewies uns folgender Versuch: Zufällig bekamen wir eine Hündin mit 6 wenige Tage alten Jungen, von denen 4 mit lebenden Ruhrbacillen gefüttert wurden. In den ersten zwei Tagen wurden diese in Milch aufgeschwemmt ins Maul geträufelt; da die Tierchen die Milch aber nur schlecht nahmen, wurde vom 3. Tage ab der Rasen einer frischen Agarkultur mittels eines Pinsels auf die Rachenschleimhaut gestrichen und die Tierchen zum Säugen angesetzt.

Hund a bekommt 10 Tage hintereinander 1 Agarkultur lebend ins Maul, ist ganz munter und zeigt keine Darmstörungen, erhält am 10. Tage 1 Kultur bei 60° abgetötet ip.: Tod abends. Duodenum frei, Ileum und Jejunum bis zum Processus hämorrhagische Enteritis mit dünnem gelben Stuhl; weiter nach unten kein Stuhl, die Schleimhaut nur wenig infiltriert. In Darm und Milz keine Ruhrbacillen nachweisbar.

Hund b bekommt 10 Tage hintereinander 1 Agarkultur lebend verfüttert, ist ganz munter und zeigt keine Darmstörungen, erhält am 10. Tage $^1/_{10}$ Kultur bei 60° abgetötet ip., ist abends leicht krank, erholt sich wieder. Erhielt 12 Tage später 5 Kulturen lebend in eine Dünndarmschlinge injiziert und gleichzeitig ip. 1 Kultur bei 60° abgetötet, erkrankt danach leicht, erholt sich aber schnell.

Hund c bekommt 14 Tage hintereinander 1 Agarkultur lebend verfüttert, ohne Erfolg; erhält am 14. Tage zugleich $^1/_6$ Kultur lebend ip., ist abends krank, erholt sich wieder, wird am nächsten Morgen getötet. Im Darm kein Befund. Aus Peritoneum, Mesenterialdrüsen und Milz lassen sich Dysenteriebacillen züchten, aus dem Darminhalt und Darmschleimhaut nicht.

Hund d bekommt 14 Tage hintereinander 1 Agarkultur lebend verfüttert, ohne Erfolg.

Hund e erhält, ca. 20 Tage alt, 5 Agarkulturen lebend in eine Dünndarmschlinge, die durch Operation freigelegt wird, injiziert. Ist abends krank, erholt sich wieder.

Hund f bleibt als Kontrolltier unbehandelt.

Diese letzten Versuche beweisen doch zur Genüge, daß die Dysenteriebacillen durch Fütterung oder direkt auf die Darm-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schleimhaut gebracht, sich dort gänzlich unschädlich verhalten und anscheinend schnell zugrunde gehen, ohne eine schädigende Wirkung auszuüben. Mit der Entstehung der hämorrhagischen Enteritis können sie nicht in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden.

Es war nun noch die Frage zu entscheiden, ob diese Darmerscheinungen allein der Wirkung des Dysenteriegiftes zukommen, oder ob man auch bei Pseudodysenterie- und anderen Bakterien unter den gleichen Versuchsbedingungen ähnliche Darmerscheinungen erhält.

Hund 36, Spitz, 7450, iv. 2 Kulturen Pseudodysenterie Flexner (B) lebend: Tod abends. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 37, Dackel, 6350, iv. 2 Kulturen Pseudodysenterie Breidenbach (A) lebend: Tod in der Nacht. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 38, Pudel, 5400, iv. 4 Kulturen Pseudodysenterie Braun (D) lebend: Tod nach 7 Stunden. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 39, Fox, 9250, iv. 4 Kulturen Pseudodysenterie Wilz lebend: Tod in der Nacht. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 40, Spitz, 6850, iv. $^1/_2$ Kultur Pseudodysenterie Wilz lebend, nimmt ab bis 6250, erholt sich wieder. Erhält nach 8 Tagen 1 Kultur und nach weiteren 3 Tagen 4 Kulturen lebend ohne Wirkung. Stuhl nie blutig gefärbt.

Hund 41, Dackel, 7200, iv. 1 Kultur Pseudodysenterie Roje (C) lebend: Keine Wirkung. Nach 3 Tagen 3 Kulturen, auch ohne Wirkung.

Die lebenden Pseudodysenteriebacillen sind hiernach in ihrer Wirkung auf den Darm des Hundes sehr verschieden; mit einzelnen Stämmen gelingt es aber, eine ausgesprochene hämorrhagische Enteritis zu erzeugen. Nach einstündigem Kochen der Kulturaufschwemmung eines an sich wirksamen Stammes benötigt man größere Mengen, um eine Wirkung auf den Darm zu bekommen.

Hund 42, 5940, iv. $7^1/_2$ Kulturen Pseudodysenterie Breidenbach 1 Stunde gekocht, wird am anderen Abend getötet: An einzelnen Stellen im Darm etwas blutiger Schleim, sonst kein Befund.

Hund 43, 6900, iv. 10 Kulturen Pseudodysenterie Breidenbach 1 Stunde gekocht: Tod abends. Im Darm hämorrhagische Enteritis, im Duodeum am stärksten, im Ileum und Dickdarm gering.

Die nächsten Versuche zeigen das Verhalten anderer nicht zur Dysenteriegruppe gehörender Bakterien.

Hund 44, Pudel, 8450, iv. 4 Kulturen B. coli lebend: Tod nach 36 Stunden. Im Darm kein Befund.

Hund 45, Dogge, 7100, soll 4 Kulturen Paratyphus Hünermann lebend iv. erhalten. Die Injektion mißglückt, das Tier bekommt nur etwa den 10 Teil. Abends krank, erholt sich wieder, erhält am näch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sten Morgen den Rest ip.: Tod abends. Oberhalb des Coecums und im Jejunum je eine etwa 10 cm lange hämorrhagisch entzündete Stelle, im übrigen Darm kein Blut, dünner Stuhl.

Hund 46, Pudel, 4700, iv. 4 Kulturen Typhus lebend: Tod nach 3 Stunden. Im oberen Teil des Darmes hämorrhagische Enteritis, Dickdarm frei.

Hund 47, Spitz, 7960, iv. 2 Kulturen Typhus lebend: Tod nach 7 Stunden. Vom Pylorus bis Mitte des Ileums hämorrhagische Enteritis, weiter nach unten die Schleimhaut nicht entzündet. Im Dickdarm dünner gelber Stuhl. Typhusbacillen in Darm und Milz nicht nachweisbar.

Hund 48, Fox, 4080, iv. $^1/_2$ Kultur Typhus lebend: Tod in der Nacht. Im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis, im Dickdarm nur schwach. Typhusbacillen im Darm und Milz nicht nachweisbar.

Von den übrigen Darmbakterien vermögen also auch die Typhusbacillen das Bild einer hämorrhagischen Enteritis zu erzeugen, ebenso wohl die Paratyphusbacillen; Colibakterien scheinen, wenn man auf den einen Versuch etwas geben darf, dazu unfähig. Wir haben es also nicht mit einer spezifischen Wirkung der Ruhrbacillen zu tun, sondern müssen die Entstehung der Darmerscheinungen auf ein auch anderen Bakterien zukommendes Bakteriengift zurückführen. Wie die nächsten Versuche ergeben, erhält man das Bild der hämorrhagischen Enteritis sogar nach Injektion von Staphylokokken und Saprophyten, z. B. Prodigiosus.

Hund 49, Teckel, 6930, iv. 2 Kulturen Staphylokokken bei 60° abgetötet: keine Wirkung.

Hund 40, Spitz, 5330, iv. 10 Kulturen Staphylokokken bei 60° abgetötet: wird nach 2 Tagen getötet, im Dickdarm kleine Hämorrhagien auf den Schleimhautfalten, sonst kein Befund.

Hund 51, Schäferhund, 8950, iv. 5 Kulturen Prodigiosus lebend: Tod nach 20 Stunden, im Darm hämorrhagische Enteritis, im Duodenum am stärksten.

Hund 52, 7300, iv. 25 Kulturen Prodigiosus 1 Stunde gekocht, Extrakt: Tod nach 24 Stunden, im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis, Duodenum und Dickdarm stark, Ileum schwach.

Hund 53, 6100, iv. 25 Kulturen Prodigiosus 1 Stunde gekochte und gewaschene Bakterien: wird nach 3 Tagen getötet, im Darm kein Befund.

Andere Bakterien wurden von uns nicht geprüft, aber in der Literatur finden sich bei genauerem Nachsehen entsprechende Angaben, z. B. für Cholerabacillen von Klemperer, für Diphtherie von Courmont und Doyon, für Proteus und Streptokokken von Celli und Levy. Vor allem gehören aber hierher die alten Mitteilungen von Bergmann und vielen anderen Forschern über die putride Intoxikation. Die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hämorrhagische Enteritis, die Hunde nach Einspritzung von Faulflüssigkeiten davontragen, wird ganz genau so beschrieben wie die Ruhrvergiftung der Tiere von uns. Auch die Fermentvergiftung scheint übrigens ähnlich zu verlaufen; von anderen chemisch genau bekannten Giften gar nicht zu reden.

Danach handelt es sich um ein bei Bakterienvergiftungen sehr gewöhnliches Symptomenbild. Es fragt sich, durch welche Stoffe es hervorgerufen wird. Man könnte an das Bergmann-Schmiedebergsche und neuerdings von Faust studierte Sepsin denken. Wahrscheinlich ist es aber wohl, daß eine ganze Reihe von Stoffen, aus denen vielleicht das Sepsin erst abgespalten wird, ähnliche Vergiftungen erzeugen können. Eine genaue Untersuchung der Vergiftung vom pharmakologischen Standpunkte aus wäre sehr zu wünschen. Für uns ist natürlich die Frage am wichtigsten, wie sich das „Hundegift" der Ruhrbacillen zu den übrigen Giften dieser Bakterien verhält. Daß es mit dem Kaninchengift nichts zu tun hat, ist durch eine erhebliche Giftwiderstandsfähigkeit bewiesen. Den beiden Meerschweinchengiften steht es in dieser Beziehung wieder nach. Sein Verhalten zum Immunserum sollte sich aus folgenden Versuchen ergeben.

Hund 54, Fox, 4860, iv. 1 Kultur 60°-Extrakt + 0,3 ccm Immunserum (2 Stunden bei 37°, 22 Stunden im Eisschrank): lebt.

Hund 55, Fox, 4700, iv. 1 Kultur 60°-Extrakt + 0,3 ccm Immunserum, Mischung wie bei 54: Tod innerhalb 24 Stunden, hämorrhagische Enteritis.

Kontrollen zu 54 s. No. 4 und 5, zu No. 55 s. No. 3 und 6.

Hund 56, Spitz, 5700, 2 Kulturen 60°-Extrakt + 2 ccm Immunserum, 1 Stunde bei 37° mit dem entstehenden Präzipitat iv. injiziert: kein Blut im Stuhl, wird nach 24 Stunden getötet, im Darm kein Befund.

Hund 57, Rattenfänger, 6300, iv. 2 Kulturen 60°-Extrakt + 1 ccm Immunserum, 1 Stunde bei 37° mit Präzipitat injiziert: kein Blut im Stuhl, wird nach 25 Stunden getötet, im Darm kein Befund.

Hund 58, Fox, 5150, iv. 2 Kulturen 60°-Extrakt + 1 ccm Immunserum, 10 Minuten bei 37°: wird nach 18 Stunden getötet, im Darm kein Befund.

Kontrollen zu Versuch 56 bis 58 s. No. 8 und 9.

Hund 59, Fox, 7120, iv. 2 Kulturen 60°-Extrakt + 1 ccm Immunserum, 10 Minuten bei 37°: wird nach 24 Stunden getötet, keine hämorrhagische Enteritis. Im Duodenum die Schleimhautfalten injiziert.

Hund 60, Pudel, 9800, iv. zuerst 1 ccm Immunserum, gleich danach 2 Kulturen 60°-Extrakt: wird nach 24 Stunden getötet, keine hämorrhagische Enteritis, einzelne Schleimhautfalten injiziert.

Kontrolle s. No. 10.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hund 61, 3150, iv. 10 Kulturen 60°-Extrakt 10 Minuten gekocht + 5 ccm Immunserum, 10 Minuten bei 37°: Tod nachts, im ganzen Darm hämorrhagische Enteritis.

Hund 62, 12640, iv. 10 Kulturen 60°-Extrakt 10 Minuten gekocht + 5 ccm normales Pferdeserum 10 Minuten bei 37°: am anderen Tage sehr krank, wird nach 20 Stunden getötet, keine hämorrhagische Enteritis. Im Duodenum die Schleimhautfalten injiziert.

Kontrolle s. No. 21 und 22.

Eine sichere Wirkung des Serums gegen den 60°-Extrakt war also, namentlich wenn es gekocht war, nicht zu erkennen. Auffällig häufig blieb aber doch der Darmbefund bei den Serumtieren gegenüber den Kontrolltieren aus. Ein Urteil wird durch die offenbar sehr ungleiche Empfänglichkeit der Hunde für das Gift erschwert.

Ruhrvergiftung beim Menschen[1]).

Der von Kruse auf Grund seiner jetzt 10 Jahre alten Untersuchungen über die Ursachen der Ruhr aufgestellte und immer wieder bestätigte Satz, daß die bacilläre Ruhr des Menschen eine echte, durch starke Vermehrung der Dysenterie- oder Pseudodysenteriebacillen in und auf der Darmwand hervorgerufene Infektion sei, besteht heute noch zu Recht. Die Behauptung, sie sei eine „Toxikose", ist nicht wahrer, als wenn man dasselbe von dem Erysipel, den Phlegmonen oder irgend einer anderen meist rein örtlichen Infektion sagte. Selbstverständlich sieht man auch bei der Ruhr wie bei diesen letzteren allgemeine Störungen auftreten, die man wohl ein Recht hat zum Teil als eine Vergiftung aufzufassen, während sie zum anderen Teil durch die örtlichen Veränderungen erklärt werden. Die Hauptzeichen, die schon in früher Zeit hochgradige Entkräftung und Abmagerung, beobachten wir auch bei den mit Ruhrbacillen infizierten oder vergifteten Meerschweinchen. Es liegt darum nahe, das oder die Meerschweinchengifte dafür verantwortlich zu machen. So gut wie niemals treten dagegen Lähmungen bei der Ruhr auf, wie sie für die Erkrankung der Kaninchen durch das „Kaninchengift" der Ruhrbacillen in erster Linie bezeichnend

1) Vergl. hierzu namentlich die Darstellung Kruses auf der Naturforscherversammlung in Köln 1908.

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

sind. Die örtlichen Veränderungen sind offenbar bei der Ruhr des Menschen durch die Wucherung der Ruhrbacillen im Dickdarm bezw. durch deren entzündungserregende Wirkung verursacht. Man kann sagen, daß jede oberflächliche Entzündung im Dickdarm hämorrhagischer und, wenn sie fortschreitet, diphtherischer Natur ist. Ein spezifisch hämorrhagisches Gift brauchen wir deshalb kaum, um die Wirkung der Ruhrbacillen im Menschen zu erklären. In der Tat besitzen die Ruhrbacillen nach den Tier- und Menschenversuchen eine solche nicht, wohl dagegen zeigt sich in dem kleineren Teil der Versuche an Kaninchen (auch beim Hunde), daß die Dysenteriebacillen ein Gift erzeugen, das vom Blute aus hämorrhagische Entzündung, namentlich in dem unteren Teile des Darmes, erzeugen kann. Wie diese Wirkung zustandekommt, ist bisher leider noch dunkel. Daß sie für den Menschen in Betracht käme, ist aus verschiedenen Gründen unwahrscheinlich. Erstens brauchen wir sie, wie gesagt, nicht, um die örtlichen Erscheinungen zu erklären. Zweitens bilden die Pseudodysenteriebacillen, die genau die gleichen Veränderungen beim Menschen hervorrufen, kein Kaninchengift, drittens werden beim Hunde ganz ähnliche hämorrhagische Entzündungen vom Blute aus auch von vielen anderen Bakterien hervorgerufen, ohne daß die betreffenden Erreger, selbst wenn sie, wie die Typhusbacillen, Blutinfektionen bewirken, denselben Einfluß auf den Darm des Menschen ausübten [1]). Aus dieser Erörterung ergibt sich, daß wohl die Meerschweinchengifte, kaum aber das Kaninchengift für die Ruhr des Menschen in Betracht kommen. Dasselbe gilt von ihren Antitoxinen. Leider verfügen wir über keine ausreichenden Giftversuche am Menschen, um diesen unseren Standpunkt dadurch unmittelbar zu stützen. Die paar jüngst von R. Pfeiffer und Ungermann veröffentlichten Versuche lehren aber wenigstens, daß die örtlichen und allgemeinen Wirkungen der Ruhrbacillen, wenn man sie unter die Haut bringt, von dem Krausschen antitoxischen Serum nicht aufgehoben werden.

---

1) Höchstens wären die sogenannten septischen Colitiden der Menschen vielleicht in dieser Weise zu erklären.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

1) Die Dysenteriebacillen erzeugen ein für Kaninchen gefährliches, schon durch die Erscheinungen, die es hervorruft, und seine Hitzempfindlichkeit gut gekennzeichnetes Gift („Kaninchengift"), welches am einfachsten durch 2-stündiges Ausziehen frischer Agarkulturen mit Kochsalzlösung bei 60° gewonnen wird, also als ein Endotoxin bezeichnet werden kann, dabei aber immunisiert und Immunkörperbildung auslöst. Das Antitoxin wirkt am sichersten und in proportionalen Mengen mit dem Gift bei Vermischung mit dem gelösten Gift, bindet sich zwar auch an die noch gifthaltigen Bacillenleiber, aber ohne diese zu entgiften.

Die Pseudodysenteriebacillen erzeugen ein ähnliches, für Kaninchen wirksames Gift nur ausnahmsweise.

2) Das Kaninchengift ist für Meerschweinchen unwirksam. Dagegen werden diese Tiere durch Auszüge der Leiber und diese selbst unter den Erscheinungen der gewöhnlichen Endotoxin- oder Bakterienproteinvergiftung getötet. Die Prüfung mittels des Immunserums zeigt aber, daß wahrscheinlich zwei Meerschweinchengifte der Ruhrbacillen zu unterscheiden sind, ein leichter lösliches, das durch Immunserum nicht beeinflußt wird, und ein fester den Leibern anhaftendes (Endotoxin im engeren Sinne), das vom Immunserum in gewissen Grenzen entgiftet wird. Beide sind recht hitzebeständig.

3) Die bei Hunden nach Injektion lebender oder abgetöteter Dysenteriekulturen und ihrer Extrakte auftretende Vergiftung, die namentlich durch hämorrhagische Enteritis sich kennzeichnet, ist nicht auf Rechnung eines spezifischen Dysenteriegiftes zu setzen, denn sie teilt diese Merkmale mit zahlreichen anderen Bakterienvergiftungen, z. B. auch mit der putriden Intoxikation (Sepsinvergiftung). Die Darmerscheinungen beim Hunde haben mit der Wirkung lebender Ruhrbacillen auf der Darmschleimhaut nichts zu tun, lassen sich auch nicht von der Darmoberfläche, sondern nur vom Blute aus erzeugen. Ob das Ruhrimmunserum auch eine antitoxische Wirkung gegenüber dem Hundegift entfaltet, ist noch nicht sicher zu sagen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4) Die Ruhr des Menschen ist eine Infektion mit örtlichen und allgemeinen Vergiftungserscheinungen. Diese haben nichts mit dem Kaninchengift und wohl auch mit dem Hundegift zu tun, und könnten eher durch die auch im Meerschweinchen wirksamen Gifte bedingt sein. Die Heil- und Schutzkraft des Ruhrimmunserums gegenüber der Ruhr erklärt sich danach außer durch seine antiinfektiösen Leistungen vielleicht durch seine antitoxischen Wirkungen auf das schwer lösliche Meerschweinchengift, während die Antitoxine gegen das Kaninchengift anscheinend ohne Bedeutung für die Serumtherapie des Menschen sind.

Literatur.

Baecher und Laub, Zeitschr. f. Immunitätsf. und experiment. Therapie, Bd. 4, Heft 1 und 2.
Bergmann, Das putride Gift und die putride Intoxikation. Dorpat, (W. Gläser) 1868.
Conradi, Deutsch. med. Wochenschr., 1903, No. 2.
Doerr, Das Dysenterietoxin. Jena (G. Fischer), 1907.
Heller, Centralbl. f. Bakt. usw., Abt. I, Bd. 42, Beiheft.
Klein, Centralbl. f. Bakt. usw., Abt. I, Orig., Bd. 44.
Kolle, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 42, Beiheft.
Kolle, Heller und de Mestral, Deutsch. med. Wochenschr., 1908, No. 19.
— — —, Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern und aus dem Laboratorium des Schweizer Serum- und Impfinstitutes, 1908, Heft 1.
Kraus und Doerr, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55.
—, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 42, Beiheft.
Kruse, Deutsch. med. Wochenschr., 1907, No. 8, 9.
—, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 42, Beiheft, p. 44.
—, Verhandl. Ges. Naturf. und Aerzte. Köln 1908, Bd. 2, p. 570.
Neisser und Shiga, Deutsch. med. Wochenschr., 1903, No. 4.
Pane und Lotti, Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, 1907.
Pfeiffer, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 42, Beiheft.
Pfeiffer und Ungermann, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 50, Heft 5.
Rosenthal, Deutsch. med. Wochenschr., 1904, No. 19.
Schottelius, Med. Klinik, 1908, No. 32.
Vaillard und Dopter, Annal. Past., 1903 und 1905.

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

Verhalten sich die somatischen und Geschlechtszellen der Pflanzen serobiologisch wie artfremde Zellen?

Von **Werner Magnus** und **Hans Friedenthal.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. März 1910.)

Nachdem der eine von uns 1905[1]) gezeigt hatte, daß während der ganzen Embryonalentwicklung eines Säugetieres seine Organsäfte sich serobiologisch mit der Präzipitinmethode als „blutsverwandt" erweisen, haben wir 1907[2]) mit der gleichen Methode den Nachweis geführt, daß alle Zellelemente einer Pflanze miteinander in Reaktion treten. Wir haben insbesondere Wert darauf gelegt, daß die männlichen Geschlechtszellen der höheren Pflanzen, der Pollen, der zugleich den Vertreter der „geschlechtlichen Generation" im Generationswechsel der Pflanzen vorstellt, mit allen Zellen des Pflanzenkörpers, also der „ungeschlechtlichen Generation", wechselseitig reagiert.

Diese Resultate werden von Dunbar jüngst[3]) angezweifelt. Dunbar hatte in einer früheren Arbeit[4]) behauptet, daß aus grünen Algen Bakterien und Pilze entstehen könnten, eine Vorstellung, die von der Kritik einstimmig als unhaltbar abgelehnt wurde. Da diese angeblich voneinander abstammenden Organismen sich serobiologisch als artfremd erwiesen, sucht er jetzt eine neue Stütze seiner Hypothesen, indem er den Nachweis zu führen versucht, daß auch bei höheren Pflanzen und Tieren, dort die männlichen Geschlechtszellen nichts mit dem chlorophyllhaltigen Blattgewebe, hier die Eier und Spermazellen nichts mit dem Bluteiweiß und Muskelfleisch zu tun hätten.

---

1) Friedenthal, Ueber die Verwertung der Reaktion auf Blutsverwandtschaft. Engelmanns Archiv, 1905 (Arbeiten 1908, p. 379).

2) Magnus und Friedenthal, Ueber die Artspezifität der Pflanzenzelle. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1907 (Arbeiten 1908, p. 465).

3) Diese Zeitschrift, Bd. 4, p. 740.

4) Dunbar, Zur Frage der Stellung der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze im System. Die Entstehung von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen aus Algenzellen. München und Berlin (R. Oldenbourg) 1907.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Wert seiner Versuchsreihen für die tierischen Objekte, die mit der Komplementablenkungsmethode gewonnen wurden, mag sich daraus ergeben, daß bei „dem Versuch, die Extrakte durch Eindampfen im Vakuum bei 40—45° C haltbarer zu machen, die Geschlechtszellen untereinander und mit dem Fleisch Verwandtschaftsreaktionen zeigten". Mit anderen Worten: Dunbar weist selbst nach, daß in der Tat bei geeigneter Versuchsanstellung die etwa vorhandenen Unterschiede der Zellen fortfallen. Da es sich aber bei der Fragestellung nicht um etwa auffindbare Unterschiede der Zellelemente, sondern um die Auffindung einer Verwandtschaft handelt, ist die Antwort für diese Frage gegeben: Geschlechtliche und somatische Zellen sind „blutsverwandt".

Auch für das untersuchte pflanzliche Objekt, den Roggen, wird die Komplementablenkungsmethode in Anwendung gebracht. Nach ihr verhält sich „das Polleneiweiß zu dem Eiweiß der Blätter, Stengel und Wurzeln wie artfremdes Eiweiß". Bei der Präzipitinmethode kann Dunbar auch eine Reaktion zwischen Pollen und Samen nicht erzielen. Als besonders auffällig muß aber bezeichnet werden, daß im Pollenimmunserum überhaupt kein Niederschlag, weder mit dem Extrakt des Pollens, noch der Samen auftritt. Da wir nun solche Niederschläge im Pollenimmunserum des Kaninchens erhielten und aus ihm unsere Folgerungen zogen, stellt Dunbar die Richtigkeit unserer Beobachtungen in Abrede. Die Nachprüfungen unserer Versuchsprotokolle ergab für uns nicht den geringsten Anlaß, an der Richtigkeit unserer Resultate zu zweifeln. Wir glauben aber, in der Lage zu sein, denjenigen Faktor aufdecken zu können, der zu den negativen Ergebnissen Dunbars führte: Wir benutzten zur Injektion und Anstellung der Reaktion die Extrakte frisch ausgestäubten Roggenpollens, Dunbar benutzte Extrakte getrockneten Roggenpollens.

Eine Reihe gelegentlich früher angestellter Versuche hat uns gezeigt, daß aus den auf gewöhnlichem Wege getrockneten Pflanzenteilen sich präzipitable Substanzen nicht extrahieren lassen. Wir hatten diese Versuche mit getrockneten Roggenpflanzen angestellt, um auf diese Weise eine Methode zu finden, etwa auch die Identität resp. Verwandtschaft von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Herbarpflanzen feststellen zu können. Aber alle diese Versuche verliefen negativ. Ohne darüber Angaben machen zu können, welche bei der Trocknung resp. dem Zelltod eintretenden Prozesse etwa diese Aenderungen bedingen, liegt kein Grund vor, nicht die gleichen, das Verschwinden der präzipitablen Stoffe bedingenden Vorgänge bei der Trocknung und dem Absterben der Pollenkörner anzunehmen. Diese Veränderung braucht naturgemäß in gar keinem Zusammenhang zu stehen mit dem unveränderten Fortbestand der Toxine des Heufiebers und ihrer Fähigkeit, eine stark antitoxische Wirkung im Immunserum hervorzurufen. Denn beide Stoffe gehören wohl ganz verschiedenen Molekulargruppen an[1]). Wissen wir doch aus Dunbars erfolgreichen Untersuchungen über die Aetiologie des Heufiebers selbst, daß die Toxine sich auch gegen Hitze sehr resistent verhalten.

Daß eine Trocknung der Pflanzenteile für den Ausfall der Reaktion nicht bedeutungslos sein möchte, hat Dunbar übrigens selbst erkannt, indem er schreibt: „Ich habe zu dem Versuche getrocknete Roggenfrüchte verwendet. Später wird noch zu zeigen sein, daß der Trocknungsprozeß für die hier in Frage stehenden Verhältnisse nicht ohne Einfluß ist.“ Nur verkennt er hier für die „trockene“ Roggenfrucht völlig, daß in ihr die Pflanzenzellen nur ausgetrocknet und bei Flüssigkeitszutritt, übrigens auch in Mehlform, zu neuem Leben erwachen[2]), so daß zwischen „frischen“ und „trockenen“ Roggenfrüchten kaum Unterschiede im serobiologischen Verhalten denkbar sind. „Aus getrockneten Roggenblättern, Stengeln und Wurzeln ließ sich nicht genügend Eiweiß für die Reaktion extrahieren“, sagt Dunbar, wir möchten sagen: nicht genügend präzipitable Substanz.

Da wir im Augenblick mit Untersuchungen ganz anderer Art beschäftigt sind, wird sich wohl Dunbar der Mühe unterziehen müssen, zur Zeit der Roggenblüte zu seinen vielen hundert Versuchen noch einige hinzuzufügen, indem er Extrakte aus frischen Roggenpollen zur Immunisierung und

1) Vergl. auch Prausnitz, „Die Heufiebergifte“ in Kraus und Levaditi, Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 1, p. 325.

2) Vergl. Kolkwitz, Ueber die Atmung ruhender Samen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 19, 1901.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anstellung der Reaktion benutzt, und wir zweifeln nicht, daß er zu dem gleichen Resultat wie das eine Mal gelangen wird, wo er kurz nach Beginn seiner Versuche bei einem mit Pflanzenpollen geimpften Pferde starke Präzipitation im homologen eiweißhaltigen Pollenextrakt erzielte. Gern werden wir aber dann der objektiven Darstellung seiner Versuche entnehmen, ob uns oder Dunbar „erhebliche Fehlerquellen unterlaufen sind".

Auf die Angriffe gegen die von uns angewandte Methodik, stets mit einem Ueberschuß des fällenden Serums zu arbeiten, gedenkt der eine von uns (H. Friedenthal) in Kürze noch an anderer Stelle einzugehen, und zu zeigen, daß auf obige Weise sich Verwandtschaft noch nachweisen läßt in Fällen, wo die übliche — auch von Dunbar angewandte — Methodik versagt, unter Vermeidung unspezifischer Niederschläge und bakterieller Trübungen, welche durch die Versuchsanordnung und die gleichzeitig angestellten Kontrollversuche ausgeschlossen werden. Die in dieser Beziehung geäußerten Befürchtungen von Dunbar erweisen sich als gegenstandslos.

Es ergibt sich aus obiger Darlegung:

1) Die männlichen Geschlechtszellen der höheren Pflanzen (Pollen) verhalten sich zu den somatischen Zellen der gleichen Art serobiologisch als artverwandte Zellen.

2) Pflanzenpollenimmunserum aus lebenden Pollenkörnern gibt im homologen eiweißhaltigen Pollenextrakt Präzipitine.

3) Beim langsamen Trocknen resp. Absterben der Pflanzenzellen werden die präzipitablen Eiweißsubstanzen der Zelle stark geschädigt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3698

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. V. No. 5.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien; Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Ueber Anaphylaxie, erzeugt mit pflanzlichem Antigen.

Von Dr. **M. Karasawa** (Tokio).

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Februar 1910.)

Ueber experimentell erzeugte Anaphylaxie mit Stoffen pflanzlicher Herkunft liegen nur spärliche Untersuchungen in der Literatur vor. Richet beschreibt die Anaphylaxie mit Krepitinen. Uhlenhuth und Haendel[1]) haben Meerschweinchen mit rohem Leinöl, mit im Handel käuflichem Ricin und mit Kokosbutter vorbehandelt. Bei Nachbehandlung der Tiere mit Extrakten aus Leinsamen, Ricinsamen bezw. Kokoskernen erwiesen sich die Tiere überempfindlich.

Raubitschek[2]) injiziert Kaninchen mit Extrakten aus Linsen und Bohnen. Bei Reinjektion mit 2 ccm des Linsen- und Bohnenextraktes 15—20 Tage nach der Vorbehandlung Erscheinungen, die Raubitschek nur mit Reserve als anaphylaktische auffaßt, da zahlreiche ausgeführte Kontrollen bei intravenöser Erstinjektion ähnliche Symptome zeigten.

In unseren Versuchen wurden Reis, Bohnen, Weizen verwendet. Die Extrakte wurden folgendermaßen dargestellt. Die Reiskörner etc. wurden, mit der 20-fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung gemischt, in einem Mörser fein zerrieben (dazu genügen 5—10 Minuten). Man läßt nun die Aufschwemmung durch 10 Minuten stehen. Die vom Bodensatz abpipettierte Flüssigkeit wurde ohne weitere Vorbereitung zur Injektion verwendet. Nur bei Bohnen- und Weizenaufschwemmungen wurde die abpipettierte Flüssigkeit vor der Injektion filtriert.

---

1) Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung für Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens, 1909.

2) Raubitschek, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 50.

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Verschiedene Zeit nach der letzten Injektion wird die Probe angestellt.

Aktive Anaphylaxie.

a) Reis.

Tabelle I.

Die Meerschweinchen wurden mit 1 : 20 Reiskochsalzlösungextrakt subkutan sensibilisiert.

Tier No.	nach Tagen	zweite Injektion	Menge	Art	Ergebnis
Mschw. 101	9	1 : 20 Reisextrakt	1,0	intrav.	θ
„ 102	12	1 : 20 „	1,0	„	leichte Erscheinung.
„ 103	12	1 : 20 „	1,0	„	θ
„ 104	15	1 : 20 „	1,0	„	sofort anaphyl. Symptome
„ 105	17	1 : 20 „	1,0	„	sofort Erschein.

Tabelle II.

Die Tiere wurden mit 1 : 20 Reiskochsalzlösungextrakt subkutan sensibilisiert.

Tier No.	vorbehandelte Menge	nach Tagen	zweite Injektion	Menge	Art	Ergebnis
Mschw. 254	Kontrolle	—	1 : 20 Reiskochsalzlösungextrakt	1,0	iv.	θ
„ 921	2,0 ccm	21	dgl.	1,0	„	nach 1′ Erschein.
„ 35	1,0 „	21	„	1,0	„	„ 5′ „
„ 254	1,0 „	21	„	1,0	„	sofort Erscheinung.
„ 23	2,0 „	19	„	1,0	„	„ „
„ 197	1,0 „	19	„	0,5	„	„ „
„ 198	0,1 „	19	„	1,0	„	θ
„ 135	0,1 „	19	„	1,0	„	θ
„ 59	0,1 „	19	„	1,0	„	θ

Es ergibt sich aus obigen Tabellen, daß Meerschweinchen nach Vorbehandlung mit 1,0—2,0 ccm 1:20 Reisextrakt nach einem Intervall von 10—21—30 Tagen sensibilisiert sind. Die anaphylaktischen Erscheinungen sind vollständig gleich denen bei Serumanaphylaxie. Es treten Krämpfe, Zuckungen auf, das Tier ist cyanotisch und dyspnoisch, erbricht, geht häufig zugrunde.

Wurde zur Vorbehandlung der Tiere nur 0,1 oder 0,01 verwendet, so zeigten diese Tiere, nach 19 Tagen reinjiziert, keine anaphylaktischen Symptome.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) Bohnen.

Tabelle III.

Tier No.	Vorbehandelt mit Bohnenextrakt	Menge	Art	Nach Tagen	Reinjekt. mit Bohnenextrakt	Menge	Art	Ergebnis
450	1:20	1,0	subk.	10	1:200	1,0	intrav.	sofort Ersch., n. 2′ Tod
460	1:20	1,0	„	10	1:200	1,0	„	Erscheinungen, überlebt
416	1:20	1,0	„	10	1:200	1,0	„	Erscheinungen, überlebt
457	1:20	1,0	„	10	1:200	0,5	„	θ
121	1:100	2,0	ip.	21	1:100	2,0	„	nach 5′ Erschein., Tod
135	1:100	2,0	„	21	1:100	1,0	„	sofort Erschein., Tod
123	1:100	2,0	„	21	1:100	1,0	„	sofort Ersch., n. 10′ Tod
146	1:100	2,0	„	21	1:100	1,0	„	nach 5′ Erschein., Tod
125	1:100	2,0	„	21	1:100	1,0	„	schwer krank

Bei Reinjektion von 1,0 ccm eines physiologischen Kochsalzextraktes aus Bohnen (1:100, 1:200) löst die Reinjektion schon am 10. Tage anaphylaktische Erscheinungen aus (Tabelle III).

Gleich Raubitschek habe ich beobachtet, daß das gesunde Meerschweinchen bei intravenöser Injektion von 0,5 bis 1,0 ccm Bohnenextrakt (1:20) schon Vergiftungserscheinungen zeigt. Eine Reihe von Tieren ging akut zugrunde. Ich habe daher zur Reinjektion immer stärkere Verdünnungen (1:100 bis 1:200) gebraucht. Solche Lösungen werden bei Reinjektion (intravenös) stets vertragen.

c) Weizen.

Tabelle IV.

Tier No.	Vorbehandelt mit	Menge	Art	Nach Tagen	Reinjekt. mit Weizenextrakt	Menge	Art	Ergebnis
8	gesund	—	—	—	1:20	1,0	iv.	θ
237	1:20 Weizenextrakt	2,0	sbk.	21	1:20	1,0	„	nach 3′ Erscheinungen, erholt sich
8	dgl.	1,0	iv.	18	1:20	1,0	„	nach 20′ Erscheinungen
286	„	2,0	„	21	1:20	1,0	„	leichte Erscheinungen
385	„	2,0	„	21	1:20	1,0	„	schwer krank
276	„	2,0	„	19	1:20	1,0	„	θ
260	„	2,0	„	19	1:20	1,0	„	θ
996	„	2,0	„	19	1:20	1,0	„	θ
179	„	2,0	„	19	1:20	1,0	„	θ

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Passive Anaphylaxie.

a) Reis.

Tabelle V.

M. 241, M. 41, M. 42, M. 403, M. 165, M. 289 wurden mit 2,0 ccm Reisextrakt (1 : 20) subkutan injiziert; nach 21 Tagen entblutet.

Tier No.	Vorbehandelt mit Seren aus	Menge	Art	nach Std.	Reinjektion mit	Menge	Art	Ergebnis
M. 178	M. 241	2,0	intrav.	24	1 : 20 Reis-NaCl-Extr.	1,0	intrav.	sofort typische Erscheinungen, nach 3' Tod
M. 165	dgl.	2,0	„	24	dgl.	1,0	„	sofort typische Erscheinungen, nach 5' Tod
M. 548	Kontrolle	—	—	—	„	1,0	„	θ
M. 483	M. 41	0,5	intrav.	24	„	1,0	„	θ
M. 448	dgl.	1,0	„	24	„	1,0	„	krank, überlebt
M. 456	M. 42	2,0	„	24	„	1,0	„	typ. Ersch., Tod
M. 481	dgl.	0,5	„	15	„	1,0	„	krank, überlebt
M. 488	M. 403	3,5	intrap.	24	„	1,0	„	θ
M. 399	M. 165	2,0	„	24	„	1,0	„	θ
M. 401	dgl.	2,0	„	48	„	1,0	„	θ
M. 403	M. 289	2,0	„	24	„	1,0	„	θ
M. 402	dgl.	2,0	„	48	„	1,0	„	θ

b) Bohnen.

Tabelle VI.

M. 275, M. 285 wurden mit 2,0 ccm Bohnenextrakt (1 : 100) subkutan injiziert; nach 21 Tagen entblutet.

Tier No.	Vorbehandelt mit Seren aus	Menge	Art	Nach Std.	Reinjektion mit	Menge	Art	Ergebnis
651	M. 275	2,0	intrav.	24	1 : 100 Bohnenextr.	1,5	intrav.	sofort Erschein., nach 5' Tod
641	dgl.	1,0	„	24	dgl.	1,0	„	leichte Erschein., überlebt
640	„	2,0	intrap.	24	„	2,0	„	θ
652	„	2,0	„	24	„	1,0	„	θ
637	M. 285	2,0	intrav.	24	„	2,0	„	Ersch., überlebt
714	dgl.	2,0	intrap.	24	„	2,0	„	θ

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aktive Anaphylaxie beim Hund.

Tabelle VII.

Hund wurde vorher mit 15,0 ccm 1:20 Reisextrakt subkutan injiziert, nach 32 Tagen Reinjektion mit 10,0 ccm Reis-NaCl-Lösungextrakt, sofort anaphylaktische Erscheinungen.

Heterologe passive Anaphylaxie.

Tabelle VIII.

K. 243 und K. 462 wurden am 16. XI., 30. XI., 10. XII., 28. XII. 10 ccm Reiskochsalzlösungextrakt subkutan injiziert. Am 17. I. Blut genommen. Kaninchensera wurde dem Tier injiziert.

Tier No.	Vorbehandelt mit Kaninchensera	Menge	Nach Std.	Reinjektion mit Reisextrakt	Menge	Art	Ergebnis
M. 682	intravenös	1,0	24	1:20	1,0	intrav.	nach 5ʰ Erschein., überlebt
„ 590	„	0,5	24	1:20	1,0	„	θ
„ 739	intraperit.	2,0	24	1:20	1,0	„	krank, nach 10′ Erscheinung, überlebt
„ 535	„	2,0	24	1:20	1,0	„	schwer krank, überlebt
„ 752	„	1,0	24	1:20	1,5	„	nach 5′ Erschein., Tod
„ 690	„	1,0	24	1:20	1,0	„	krank
„ 691	„	2,0	24	1:20	1.0	„	schwer krank, überlebt

Aus dem vorigen geht hervor, daß die passive Uebertragung bei Pflanzeneiweißanaphylaxie nicht nur auf dieselben Tierspecies (vom sensibilisierten Meerschweinchen auf das gesunde), sondern auch heterolog (vom sensibilisierten Kaninchen auf das gesunde Meerschweinchen) durchführbar ist.

Zur Spezifität der Pflanzenanaphylaxie.

a) Reis.

Das Meerschweinchen wurde mit 2,0 ccm Reiskochsalzlösungextrakt (1:20) subkutan vorbehandelt und nach einem Intervalle mit verschiedenem Antigen intravenös reinjiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX.

Tier No.	Tage nach Vorbehandlung	Reinjiziert mit	Menge	Ergebnis
254	Kontrolle	1:20 Reisextrakt	1,0	θ
921	21	1:20 „	1,0	nach 1′ Erscheinungen
458	34	1:20 Rollgerstenextrakt	1,0	θ
27	34	1:20 Sagoextrakt	1,0	θ
38	34	1:20 Weizengries	1,0	θ
249	18	1:20 Kukuruz	1,0	θ
105	36	1:100 Bohnenextrakt	1,0	θ

Den M. 458, 27 und 38 1 Stunde nach Reinjektion wieder 1,0 ccm Reiskochsalzlösungsextrakt (1:20) intravenös injiziert. Die Tiere wurden sofort anaphylaktisch und endeten bald.

b) Bohnen.

Tabelle X.

Das Meerschweinchen wurde mit 2,0 ccm Bohnenextrakt (1:100) intraperitoneal vorbehandelt. Nach 23 Tagen mit verschiedenem Antigen reinjiziert.

Tier No.	Reinjiziert (intravenös) mit	Menge	Ergebnis	1 Stunde nach Reinjektion wieder injiziert mit	Menge	Ergebnis
561	1:100 Linsenextrakt	1,0	θ	1:100 Bohnenextrakt	1,0	sofort Erschein., Tod
453	1:100 grüne-Erbsen-Extrakt	1,0	θ	dgl.	1,0	sofort Erschein., überlebt
641	1:100 Nußextrakt	1,0	θ	„	1,0	sofort Erschein., Tod
640	1:100 gelbe-Erbsen-Extrakt	1,0	θ	„	1,0	Erschein., Tod
251	1:100 große-Bohnen-Extrakt	1,0	θ	„	1,0	θ
233	dgl.	1,0	krank	„	1,0	schwer krank, überlebt

Die Spezifität des anaphylaktischen Zustandes habe ich bei mit Reis- und Bohnenextrakten vorbehandelten Tieren geprüft. Es zeigte sich, daß die Reaktionen streng spezifisch sind. Tiere, mit Reisextrakt vorbehandelt, vertragen Reinjektion von Extrakten aus Rollgerste, Sago, Weizengries, Weizen und Bohnen reaktionslos; Tiere, mit Bohnenextrakt vorbehandelt, die Reinjektion von Extrakten aus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Linsen, Nüssen, grünen Erbsen, gelben Erbsen reaktionslos.

Zur weiteren Analyse der Pflanzenanaphylaxie der Pflanzeneiweißstoffe habe ich die von Biedl und Kraus ausgearbeitete Methode der Anaphylaxie mittels Kymographion geprüft.

Hund No. I (am 10. XII. 1:20 Reiskochsalzlösungextrakt 15,0 ccm subkutan injiziert).

10. I. 1910 Reisextrakt (1:20) 10,0 ccm intravenös injiziert. 50 Sekunden nach der Injektion Blutdruck plötzlich stark herabgesetzt (etwa 120 mm). Die Blutdrucksenkung hält ziemlich lange an, selbst nach 5 Minuten hat der Blutdruck noch nicht die Normalhöhe erreicht. Die anaphylaktischen Erscheinungen werden einige Minuten nach Reinjektion deutlich. Der Hund kollabiert, wird ruhig, erbricht oft, es treten starke Diarrhöen, sowie Zuckungen auf.

Das der Vena femoralis entnommene Blut gerinnt auffallend langsam, ist nach 30 Minuten noch flüssig.

Kontroll-Hund No. II (gesund).

10. I. 1910 Reisextrakt (1:20) 10,0 ccm intravenös injiziert.

Keine anaphylaktischen Symptome. Die Blutdrucksenkung ist nur gering und vorübergehend, verschwindet nach einer Dauer von ca. 1 Minute. Das von der Vena jugularis entnommene Blut ist nach 10 Minuten schon geronnen.

Das Ergebnis des Versuches stimmt vollkommen mit den bei Serumanaphylaxie gemachten Erfahrungen überein.

Zusammenfassung.

Mittels pflanzlicher Stoffe lassen sich Tiere spezifisch sensibilisieren. Die vorbehandelten Tiere reagieren mit anaphylaktischen Erscheinungen nur auf das entsprechende Antigen. Alle Erscheinungen, welche bei der Serumanaphylaxie bekannt sind, finden wir hier wieder. Tsuru konnte auch häufig Abnahme des Komplementgehaltes feststellen. Bei Hunden kommt es zur typischen Blutdrucksenkung, Ungerinnbarkeit des Blutes. Auch läßt sich die Anaphylaxie passiv auf gesunde Tiere übertragen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien: Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.]

Ueber den Einfluß des anaphylaktischen Shocks auf das Blut.

Von Dr. **Hugo Weiß** und Dr. **J. Tsuru** (Osaka).

Mit 1 Figur im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Februar 1910.)

Unter den charakteristischen Phänomenen des als Anaphylaxie bezeichneten Zustandes bei Hunden nennen Biedl und Kraus in ihren „Experimentellen Studien über Anaphylaxie" neben den typischen klinischen Vergiftungserscheinungen und der rapiden Blutdrucksenkung bei der intravenösen Reinjektion auch das bis dahin nicht weiter beobachtete Phänomen der starken Herabsetzung oder völligen Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes und damit parallel gehend den Eintritt einer Leukopenie, wobei die polynukleären Leukocyten fast völlig verschwinden und viele mononukleäre Zellen vom Typus der Lymphocyten und auffallend viele Blutplättchen im Blutbilde erscheinen.

Was die Blutgerinnung anlangt, so wurden Nachprüfungen dieser merkwürdigen Erscheinung an anderen Tierarten nicht gemacht[1]), und nur Richet erwähnt in seiner Besprechung der Biedl-Krausschen Arbeit, daß er bei seinen überaus zahlreichen Versuchen an anaphylaktischen Tieren eine Abnahme oder einen Schwund der Blutgerinnbarkeit nicht beobachten konnte, daß zum mindesten unter dem anaphylaktischen Einflusse des Mytilokongestins oder des Aktinokongestins eine Abnahme der Koagulabilität sicher nicht zu konstatieren war.

---

1) Während der Drucklegung fanden wir, daß Friedberger in seiner Arbeit: Weitere Untersuchungen über Eiweißanaphylaxie, IV. Mitteilung (diese Zeitschrift, Bd. 4), einige Blutgerinnungsuntersuchungen bei anaphylaktischen Meerschweinchen gemacht hat.

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

v. Pirquet und Schick machen darauf aufmerksam, daß im Inkubationsstadium der Serumkrankheit die Leukocytenzahl mäßig ansteige, um plötzlich, mit dem Eintritt der Serumerscheinungen beträchtlich abzusinken.

Die Leukocytenkurve gelangt zu einem Tiefpunkte, von dem sie sich gegen Ende der Serumkrankheit zu normalen Werten erhebt. Die Leukopenie hält ca. 3—4 Tage an. Auch sie betonen, daß die Verminderung auf Kosten der polynukleären Zellen geht. B. Bienenfeld widmete diesem Thema eine sorgfältige Arbeit. Auch sie findet in den meisten Fällen von Serumkrankheit eine den übrigen klinischen Symptomen angegliederte Leukopenie, die nach einem Leukocytenanstieg in der Inkubationszeit einsetzt, 5—14 Tage anhält, ihr Minimum zwischen dem 10. und 19. Tage nach der Einverleibung des artfremden Eiweißes erreicht, um dann wieder einer Leukocytose zu weichen.

Auch bei Tierexperimenten wurde auf dieses Verhalten Rücksicht genommen, und zwar bei Injektion der verschiedenartigsten Substanzen (Bakteriengemische, -reinkulturen, -aufschwemmungen, -toxine, -extrakte usw.), und immer war die Verminderung der im strömenden Blute kreisenden Leukocyten zu konstatieren, die um so hochgradiger war, je näher der Zeitpunkt der Untersuchung dem der Injektion stand.

Die Blutverhältnisse sind bisher experimentell nur an Hunden studiert worden. Wie sich das Blut bei der Anaphylaxie der Meerschweinchen verhält, war von besonderem Interesse zu erfahren. Der Mechanismus der Anaphylaxie bei Meerschweinchen ist von dem der Hunde verschieden (Biedl und Kraus, Auer und Lewis). Auch gegenüber Pepton verhalten sich diese Tiere in bezug auf Blut anders als Hunde.

Methodik.

Zur Bestimmung der Koagulationszeit wurde die Methode von A. E. Wright benutzt. Sie ist die einzige von allen bisher vorgeschlagenen, die mit geringen Fehlerquellen arbeitet und genaue Resultate zu geben vermag, vorausgesetzt, daß sie mit größter Exaktheit gehandhabt wird. Während bei den alten Methoden Zeitdifferenzen von mehreren Minuten keine

Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

bedeutende Rolle spielen und das Blut dem Einfluß der Außentemperatur ausgesetzt ist, gelingt es nach dem Wrightschen Verfahren, den Moment des Beginns der Gerinnung auf 3 bis 5 Sekunden genau abzugrenzen. Dadurch ist es möglich, Veränderungen zu beobachten, die den bisherigen Forschern entgehen mußten, so daß man annehmen kann, daß die meisten der einschlägigen Arbeiten ungenaue Werte aufweisen bezw. nur dort verwertbar sind, wo ganz auffallende Differenzen in der Gerinnungszeit gesehen wurden, wie bei Hämophilie oder bei Peptonblut.

Das Instrumentarium, dessen sich die Wrightsche Methode bedient, besteht aus eigens konstruierten Glaskapillaren (s. Figur), einer Thermosflasche und einer Sekundenstoppuhr.

Die Kapillare ist ca. 30 cm lang und trägt zwei Marken *B* und *C*. Der Inhalt zwischen diesen beträgt 5 cmm, wodurch immer mit einer gleichen Blutmenge operiert wird. Die Teile

AB und *CD* sind inhaltsgleich. Die Kapillare ist mittels Siegellackes in ein Ansatzrohr *E* eingeklebt, über welches man eine Gummikappe *F* stülpt.

Der Untersuchungsvorgang ist nun der, daß man vorerst mittels Zusammendrückens der Gummikappe die Luft aus dem ganzen System austreibt, das untere Ende *A* in Quecksilber taucht und durch vorsichtiges Nachlassen des Fingerdruckes auf *F* bis zur Marke *B* Quecksilber aufsaugt und festhält; dann wird die Kapillare in Blut gesteckt, das frisch aus dem Blutgefäße rinnt und der Luft nicht ausgesetzt war; das Blut wird so lange aufgesogen, bis die obere Quecksilberkuppe die Marke *C* erreicht hat, dann die Gummikappe losgelassen und die so gefüllte Kapillare in eine Thermosflasche versenkt, auf der ein Glastrichter aufsitzt. In der Flasche ist Wasser von 37°. Damit das Quecksilber beim Ende *D* nicht herausgeschleudert werde, ist die Kapillare gedrosselt (konisch zugespitzt). Das Wasser der Flasche kann nicht nachgesogen werden, weil im Raume *AB* Luft enthalten ist. Der Augen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

blick des Eintauchens wird mittels Sekundenstoppuhr markiert. Man wartet nun eine gewisse Zeit, 1, 2, 3 Minuten, oder Bruchteile der Minute — die entsprechende Stundenzahl muß bei dem jeweiligen Untersuchungsobjekt ermittelt werden, beim Erwachsenen z. B. 2'30", beim Meerschweinchen 1' bis 1'20" etc. — streift das Wasser vom Röhrchen rasch mit den Fingern ab und drückt den Inhalt, Blut und Quecksilbertropfen, auf Filtrierpapier aus. Ist das Blut ungeronnen, so erscheint auf dem Papier ein roter Fleck. Ist Gerinnung bereits eingetreten, so läßt sich ein feiner Fibrinfaden mit dem Röhrchen aufheben. Bei zu starker Gerinnung bleibt der Faden im Röhrchen und läßt sich erst durch Zerbrechen der Kapillare ausziehen. Als Maß der Gerinnungszeit ist jener Moment anzusehen, in welchem der erste feine Faden auf dem Papier erscheint und nicht etwa ein dickes Gerinnsel. Vorteilhaft ist es, mit zwei Röhrchen bei einer Bestimmung zu arbeiten, weil dadurch Zeit gewonnen und die Zeitgrenze enger gefaßt werden kann. Gänzlich unzulässig ist es, dasselbe Röhrchen ein zweites Mal zu verwenden, weil immer Blutpartikelchen an der Innenwand haften bleiben und die Untersuchung dann nicht einwandsfrei wäre.

Die so erhaltenen Werte sind wohl nur relativ, weil in erster Linie das Blut nicht mehr mit der lebenden Gefäßwand in Berührung bleibt, was nach den fundamentalen Beobachtungen Brückes eine der wichtigsten Ursachen der Koagulation ist. Aber die Fehler der anderen Methoden: Einführung eines Fremdkörpers in das Blut, Aenderung der Temperatur, länger dauernde Einwirkung der atmosphärischen Luft, sind dabei vermieden. Die erhaltenen Werte sind für die Beurteilung der Gerinnungszeit vollkommen ausreichend.

Wir prüften zuerst die Blutgerinnung bei der aktiven und passiven Anaphylaxie am Meerschweinchen.

Anfangs wurde das Blut der Ohrvene entnommen, ein Verfahren, das gewisse Ungenauigkeiten aufwies, weil hier das Blut zu langsam fließt, mit den Haaren in Berührung kommt und die Haut überdies mit Aether gereinigt worden war; es ergaben sich Differenzen von 5"—20" gegenüber dem Jugularvenenblut. Diese Zeit ist bei der Wrightschen Methode schon ausschlaggebend. Deshalb beschränken wir uns in der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Folge immer nur auf die Blutentnahme aus der Vena jugularis.

Bei dem zu untersuchenden Meerschweinchen wurde also die eine Jugularis freigelegt, zentral abgeklemmt, peripher mit der Schere ein wenig angeschnitten und das frisch ausströmende Blut mittels Wright-Röhrchen untersucht.

Nach Unterbindung dieser Jugularis wurde erst der Versuch gemacht, teils durch intravenöse Injektion in die zweite Jugularis, teils durch intraperitoneale Injektion. Nach einer gewissen Zeit, sei es daß die eingetretenen anaphylaktischen Erscheinungen es verlangten, bevor noch das Tier verendete, sei es bei überlebenden Tieren nach längerer Zeit, wurde wiederum aus der Jugularis Blut entnommen oder, wenn da keines zu gewinnen war — was bei schweren, agonalen Erscheinungen häufig vorkam — aus der Carotis oder ausnahmsweise aus dem Herzen. Gleichzeitig wurden aus demselben Blute Proben zu Leukocytenzählung aufgesogen (Thoma-Zeiss). Die dabei gewonnenen Resultate sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefaßt.

I. Versuche an aktiv mit Serum vorbehandelten Meerschweinchen mit intravenöser Reinjektion.

Eine Serie von Meerschweinchen, welche am 12. XI. je 0,1 ccm Pferdeserum subkutan erhielten und 46—50 Tage später reinjiziert wurden, eine Serie, die am 10. XII. vorbehandelt und nach 21—25 Tagen reinjiziert wurden.

Tabelle I.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Reinjektion	Leukocytenzahl vor der Reinjektion	Dosis der Reinjektion Pferdeser. iv.	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Reinjektion	Leukocytenzahl nach der Reinjektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
583	2′ + 1′ 30″ + 1′ +	14 100	0,5 ccm	2′	2′ — 2′ 40″ + 3′ +	5 000	1′ 40″	8 100	sofort typ. Anaphylaxieerscheinungen, Agonie
581	45″ — 1′ +	17 600	1,0 ccm	2′	1′ 40″ — 2′ — 3′ + Beg.	5 400	2′	12 200	ebenso
586	1′ — 1′ 20″ + Beg.	5 100	0,5 ccm	2′	1′ 35″ — 2′ — 3′ +	2 000	1′ 40″	3 100	ebenso

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Reinjektion	Leukocytenzahl vor der Reinjektion	Dosis der Reinjektion Pferdeser. iv.	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Reinjektion	Leukocytenzahl nach der Reinjektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
632	1′ 35″ + 1′ 20″ + 1′ 15″ + Beg.	8 200	0,5 ccm	3′	2′ 05″ — 2′ 10″ — 2′ 20″ — 2′ 40″ + Beg.	2 600	1′ 25″	5 600	nach 12′ 30″ typische Anaphylaxie
635	1′ 15″ + 1′ 10″ + 1′ + Beg.	16 100	0,3 ccm	15′	2′ 25″ — 2′ 40″ +	11 600	1′ 40″	4 500	nach 12′ 30″ typische Anaphylaxie
543	1′ — 1′ 10″ — 1′ 20″ +	11 200	0,5 ccm	1′	2′ 30″ — 2′ 50″ +	7 400	1′ 30″	3 800	Tier stirbt während der Reinjektion
563	1′ 15″ — 1′ 25″ +	9 800	0,5 ccm	1′	2′ 10″ — 2′ 20″ +	3 400	55″	6 400	nach 30″ typische Anaphylaxie
531	1′ 20″ + 1′ 05″ + Beg.	6 400	0,5 ccm	2′	2′ — 2′ 15″ + Beg.	1 600	1′ 10″	4 800	nach 1′ typische Anaphylaxie
590	1′ 10″ + 53″ —	13 000	0,5 ccm	4′	2′ 40″ + 2′ 28″ + 2′ 22″ + Beg.	5 100	1′ 12″	7 900	n. 1′ schwer krank, nach 3′ 30″ agonal
415	1′ 08″ + 50″ —	10 100	0,5 ccm	2′	2′ 15″ + 1′ 52″ + 1′ 50″ — 1′ 42″ —	2 400	44″	7 700	nach 40″ Beginn der Erscheinung., nach 2′ agonal

Erklärungen zu Tabelle I.

Die Zahlen der Rubrik Gerinnung bedeuten die Zeiten, nach welchen die Röhrchen ausgeblasen wurden; der positive Ausfall ist mit +, der negative mit — bezeichnet.

Beg. heißt Beginn der Gerinnung, der erste feine Fibrinfaden, der sich mit der Kapillare aufheben läßt.

iv. intravenös.

Die Zeit der zweiten Blutentnahme ist vom Zeitpunkt der Reinjektion an gerechnet.

Unter typischen Erscheinungen verstehen wir jenen Zustand nach der Reinjektion, bei welchem das Tier den Pruritus facialis und nasalis (Richet), Niesreiz bekommt, Struppigwerden der Haare, Würgen und Husten, Aufgetriebensein des Abdomens, Hyperalgesie der Haut, Hinfälligkeit, frequente Atmung, spontane Harn- und Kotentleerung, schwerste Dyspnoë, Temperaturabfall, krampfartige Laufbewegungen, Spring- und Schleuderkrämpfe, worauf es meist nach wenigen Minuten verendet. Vor Eintritt des Exitus wurde das Blut untersucht.

Alle intravenös reinjizierten Tiere zeigen, wie die Tabelle beweist, gleichmäßig die Erscheinungen schwerster

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Anaphylaxie. Die Leukocytenzahl sinkt ganz plötzlich auf die Hälfte, $^1/_3$, $^1/_4$ der ursprünglichen Zahl ab. Diese Leukocytenstürze sind manchmal ganz enorm. Das Tier 581 z. B. weist eine Differenz von 12000 binnen 2 Minuten auf, Tier 531, das anfangs nur 6400 weiße Blutzellen in 1 cmm darbot, hatte während der anaphylaktischen Erscheinungen 1600 derselben. Damit parallel geht die Veränderung in der Gerinnungszeit. Während vor dem Versuch durchschnittlich Werte von 1', 1' 15", 1' 20" zu finden waren, zeigte das Blut bei typischen Erscheinungen Verzögerungen um 1'—2', und zwar ist die Verzögerung gerade dort am stärksten ausgeprägt, wo die schwersten Vergiftungserscheinungen und die größten Leukocytenstürze eingetreten waren. Das oben hervorgehobene Tier No. 581 wies vor der Reinjektion 1' als Koagulationszeit auf, nach derselben 3', also eine Zeitdifferenz von 2'. Die Tiere 583 und 586, gleichfalls mit starken Leukocytenstürzen, zeigen eine Gerinnungsdifferenz von 1' 40".

Ein Parallelismus zwischen Leukocytenzahl und Gerinnungszahl besteht nicht. Meerschweinchen 563 und 415, die sehr niedrige Leukocytenwerte darboten, hatten wohl sehr deutliche, aber keine so großen Differenzen wie etwa No. 635.

Da bekanntlich die Vergiftungserscheinungen bei der intraperitonealen Reinjektion nicht so furibund vor sich gehen wie bei der intravenösen, sondern gewöhnlich 10 bis 15 Minuten, ja selbst 1 Stunde brauchen, um zur vollen Entwicklung zu kommen, wurde eine Anzahl gleich vorbehandelter Meerschweinchen intraperitoneal reinjiziert und wieder zu Anfang und zu Ende des Versuches auf Blutgerinnung und Leukocytenzahl geprüft. Bei den Tieren, welche die Krankheit überstanden haben, wurde die Untersuchung nach $^1/_2$ Stunde, nach 6—7 Stunden und am folgenden Tage durchgeführt. Dadurch konnte kontrolliert werden, ob bei langsamer Entwicklung der anaphylaktischen Erscheinungen die Blutgerinnungsverhältnisse andere seien und ob nach Schwinden der Erkrankung das Blut wieder die ursprünglichen Befunde gebe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Versuche an aktiv mit Serum vorbehandelten Meerschweinchen mit intraperitonealer Reinjektion.

Die gleiche Serie von Meerschweinchen am 12. XI. und 10. XII. mit Pferdeserum vorhehandelt und nach 3—7 Wochen reinjiziert.

Tabelle II.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Reinjektion	Leukocytenzahl vor der Reinjektion	Dosis der Reinjektion Pferdeser. ip.	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Reinjektion	Leukocytenzahl nach der Reinjektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
587	1′ — 1′ 03″ — 1′ 10″ + Beg.	9 300	3,0 ccm	30′	2′ + 1′ 45″ + 1′ +	3 000	—	6300	geringe Erscheinungen, Tier erholt sich
594	1′ 05″ — 1′ — 1′ 15″ +	7 800	3,5 ccm	20′	1′ 42″ — 1′ 55″ + Beg.	3 000	40″	4800	nach 10′ Beginn der Erschein., nach 18′ Höhe, Tier agonal
465	1′ 20″ — 1′ 25″ — 1′ 30″ + Beg.	13 600	2,0 ccm	30′	2′ 15″ + 1′ 50″ + Beg. 1′ 35″ —	5 400	20″	8200	nach 15′ schwere Erscheinungen, erholt sich
80	1′ 10″ + 1′ 05″ + Beg.	11 500	1 ccm	45′	3′ — 3′ 30″ +	7 200	2′ 25″	4300	nach $^3/_4{}^h$ typ. Anaphyl., Tier verendet
81	1′ — 1′ 10″ + Beg.	15 600	2 ccm	50′	2′ 35″ + 2′ 30″ + Beg.	10 000	1′ 20″	5600	nach 50′ typische Erscheinungen, Tod
541	1′ 15″ — 1′ 20″ + Beg. 1′ 25″ +	16 500	2 ccm	1^h	1′ 30″ — 1′ 40″ + Beg. 1′ 50″ +	10 000	20″	6000	leichte Symptome, erholt sich
				6^h	1′ 50″ + 1′ 30″ + 1′ 20″ + Beg.	17 700	—	—	Tier bleibt am Leben
10	1′ — 1′ 10″ + Beg.	12 000	1,0 ccm	$^1/_2{}^h$	2′ + 1′ 40″ + Beg.	11 400	30″	1100	leichte Erscheinung.
				7^h	1′ 30″ + 1′ + Beg.	18 400	—	—	Tier erholt sich
				24^h	1′ +	11 800	—	—	
733	1′ + 50″ + Beg.	16 500	1,5 ccm	$^3/_4{}^h$	1′ 35″ + 1′ 30″ —	14 000	45″	2500	nach $^3/_4{}^h$ deutliche Erscheinungen
				7^h	1′ + 55″ + 53″ + Beg.	14 400	—	2400	Tier ganz erholt
				24^h	1′ + 55″ + Beg.	13 500	—	3000	Tier ganz erholt

Die Tabelle II zeigt nun ausnahmslos, daß sich auch bei intraperitonealer Reinjektion des Serums die

Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Gerinnungserscheinungen analog verhalten wie bei der intravenösen. Wo typische Anaphylaxieerscheinungen auftreten, ist die Verzögerung der Gerinnung eine ausgesprochene und um so bedeutender, je stärker die Erscheinungen waren. Ist die Erkrankung nur eine leichte, so sind die Differenzen in der Koagulationszeit nur geringe oder fehlen überhaupt. Erholt sich das Tier, so kehrt die Gerinnbarkeit zur Norm zurück. Die Leukocytenzahlen nehmen in der Regel auch bei langsamem Verlauf der Anaphylaxie ab; zu auffallenden Stürzen kommt es nur bei heftigen Erscheinungen, die letal enden. Bei überlebenden Tieren entwickelt sich rasch Leukocytose, die schon wenige Stunden nach der Erkrankung zu finden ist.

Das bisherige Resultat unserer Untersuchungen lautet demnach:

Bei der aktiven Serumanaphylaxie tritt bei Meerschweinchen eine wesentliche Verzögerung der Blutgerinnungszeit und eine auffallend rasche Abnahme der Leukocytenzahl ein. Diese beiden Symptome stehen nicht in proportionalem Verhältnis. Die Gerinnungsverzögerung ist um so größer, je stärker die klinischen Erscheinungen am Tiere sind. Sind die letzteren leicht, so ist die Gerinnungsverzögerung eine relativ unbedeutende; erholt sich das Tier, dann wird die Gerinnbarkeit gleich der im Anfang. Die Leukocytenzahl steigt rasch an und verbleibt dauernd hoch.

Um nachzuweisen, daß dieses Verhalten der Blutgerinnung nicht allein bei der aktiven Serumanaphylaxie vorkommt, sondern bei Anaphylaxie überhaupt, haben wir Kontrollversuche an gesunden Meerschweinchen und bei anderen Arten der Anaphylaxie durchgeführt.

III. Versuche an gesunden Meerschweinchen.

5 gesunden Tieren wurde in gleicher Weise Pferdeserum intravenös und intraperitoneal injiziert und die Blutgerinnung zu verschiedenen Zeiten geprüft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Injektion	Leukocytenzahl vor der Injektion	Dosis der Injektion Pferdeserum	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Injektion	Leukocytenzahl nach der Injektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
44	2′ 30″ + 1′ 40″ + 1′ 35″ + 1′ 20″ + Beg.	12 500	0,5 ccm iv.	30′	2′ + 1′ 42″ + 1′ 15″ + Beg.	13 900	keine	1 400	keine
				24ʰ	1′ — 1′ 10″ — 1′ 20″ + Beg.	13 600	keine	1 100	keine
45	1′ 15″ 1′ + Beg.	12 700	1,0 ccm iv.	30′	1′ 20″ + 1′ + 55″ —	10 200	keine	2 500	keine
				24ʰ	55″ — 1′ — 1′ 10″ +	4 200	10″	8 500	keine
672	1′ + 45″ + Beg.	11 400	0,5 ccm ip.	1ʰ	1′ + 50″ + 45″ + Beg.	11 900	keine	500	keine
581	1′ + 50″ + Beg. 45″ —	12 900	0,5 ccm iv.	10′	1′ — 1′ 20″ + Beg. 1′ 30″ +	12 450	30″	450	keine
563	50″ — 1′ 05″ — 1′ 10″ +	12 000	3,0 ccm ip.	6ʰ	1′ — 1′ 05″ + Beg. 1′ 10″ +	15 000	keine	3 000	keine

Es ergab sich demnach, daß bei gesunden Tieren die Pferdeseruminjektion keine weitere Störung bewirkt, ebensowenig aber findet sich eine Aenderung der Blutgerinnung oder eine wesentliche der Leukocytenzahl. Die unbedeutende Verzögerung bei den Tieren No. 45 und 581 mag eine zufällige Ursache haben oder liegt vielleicht noch innerhalb der Fehlergrenzen.

Als weitere Kontrolle dienten Meerschweinchen, welche zur Auswertung von Diphtherietoxin verwendet worden waren und bloß dieses ohne Pferdeserum erhalten hatten, dann aber mit Pferdeserum behandelt wurden. Wir nennen sie kurzweg Diphtherietoxintiere. Sie lieferten folgendes Ergebnis.

IV. Versuch.

Meerschweinchen, zur Auswertung von Diphtherietoxin mit 0,01 bis 0,05 vorbehandelt.

Intravenöse und intraperitoneale Reinjektion mit Pferdeserum.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Reinjektion	Leukocytenzahl vor der Reinjektion	Dosis der Injektion Pferdeserum	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Reinjektion	Leukocytenzahl nach der Reinjektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
492	3′ + 2′ 30″ + 2′ + Beg.	6 500	1,0 ccm iv.	30′	1′ 35″ — 2′ + 2′ 10″ +	5 100	keine	1400	keine
490	2′ + 1′ 45″ + 1′ 30″ + 55″ + Beg.	8 100	1,0 ccm iv.	15′	2′ 20″ + 1′ 50″ + 1′ +	3 000	5″	5100	keine
496	1′ 30″ + 55″ + 30″ —	—	1,0 ccm iv.	45′	2′ 25″ + 2′ + 1′ + Beg.	—	5″	—	keine
614	1′ 30″ + 1′ 20″ + 1′ 10″ —	7 600	1,0 ccm iv.	1ʰ	1′ + 45″ —	5 600	20″	2000	keine
617	1′ 30″ + 50″ + Beg.	7 700	1,0 ccm iv.	24ʰ	1′ + 30″ —	11 400	10″	3700	keine
600	1′ 10″ — 1′ 30″ — 1′ 40″ +	17 700	1,0 ccm iv.	24ʰ	1′ — 1′ 20″ +	18 600	20″	—	keine
643	46″ — 55″ — 1′ +	8 800	0,5 ccm iv.	50′	50″ + Beg. 1′ + 1′ 20″ +	9 400	10″	—	keine
635	50″ + Beg. 1′ +	9 000	1,0 ccm iv.	1ʰ	1′ + 58″ + Beg. 55″ —	8 400	2″	—	keine
629	1′ +	9 000	2,0 ccm ip.	1ʰ	55″ + Beg. 1′ +	8 900	5″	—	keine

Diese Diphtherietoxin-Tiere haben für unseren Zweck den Wert von normalen, da sie nicht durch Vorbehandlung mit Pferdeserum sensibilisiert worden waren. Sie boten deshalb auch keine Anaphylaxieerscheinungen. Bezüglich der Blutgerinnung war keine nennenswerte Aenderung zu finden.

Es fehlten auch Differenzen der Leukocytenwerte, die als deutliche Veränderung des Blutbildes ausgesprochen werden könnten.

Die nächste Gruppe betraf

V. Versuche an passiv vorbehandelten Meerschweinchen (homologe passive Uebertragung).

18. I. Meerschweinchen No. 727, 603 und 541 erhielten je 2 ccm des mit Pferdeserum am 7. I. aktiv sensibilisierten Meerschweinchenserums intraperitoneal.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

18. I. Meerschweinchen No. 618 erhielt 3 ccm des mit Pferdeserum am 7. I. aktiv sensibilisierten Meerschweinchenserums intraperitoneal.

19. I. Reinjektion des Pferdeserums bei diesen 4 Tieren.

19. I. Meerschweinchen No. 453 und 646 erhielten gleichfalls je 2 ccm des mit Pferdeserum aktiv sensibilisierten Meerschweinchenserums intraperitoneal.

19. I. Meerschweinchen No. 541 erhielt 2,5 ccm, No. 739 erhielt 3 ccm desselben Serums intraperitoneal.

19. I. Reinjektion des Pferdeserums bei 727, 603, 541 und 618 (nach 24 Stunden).

20. I. Reinjektion des Pferdeserums bei 453, 639, 746 und 541 (nach 24 Stunden).

Tabelle V.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Reinjektion	Leukocytenzahl vor der Reinjektion	Dosis der Reinjektion Pferdeserum	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Reinjektion	Leukocytenzahl nach der Reinjektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocytenzahlen	Symptome
727	1′ — 1′ 25″ + 1′ 10″ + Beg.	19 600	1,0 ccm iv.	2′	1′ 45″ + Beg. 2′ +	8 000	35″	11 600	sofort typische Erscheinungen
603	1′ 30″ + 1′ 20″ +	20 400	1,0 ccm iv.	2′	1′ 40″ — 2′ 10″ + Beg.	11 400	50″	9 000	typische Erscheinungen
541	1′ 15″ + Beg.	13 900	0,5 ccm iv.	3′	1′ 45″ — 1′ 50″ — 2′ + Beg.	8 100	45″	5 800	dgl.
618	1′ 15″ +	12 900	2,0 ccm ip.	25′	1′ 30″ — 1′ 45″ + Beg. 2′ +	9 300	30″	3 600	deutliche Erscheinungen, Tier erholt sich
453	1′ + 50″ + Beg.	8 000	1,5 ccm ip.	30′	1′ + 50″ +	11 500	keine	Vermehrung um 3 500	keine Erscheinungen
639	1′ + 55″ —	9 000	2,0 ccm ip.	30′	50″ + 40″ —	10 000	keine	keine	dgl.
746	1′ + 50″ + Beg.	12 100	2,0 ccm ip.	45′	40″ + 45″ + 1′ +	8 000	10″ früher	4 100	dgl.
541	1′ + 55″ —	7 000	1,5 ccm ip.	1ʰ	45″ +	9 300	15″ früher	2 300 mehr	dgl.

Diese Versuchsreihe ähnelt der des I. Versuches und unterstützt die dort gefundenen Resultate. Die Meerschweinchen No. 727, 603 und 541, intravenös reinjiziert, zeigten sich gegen Pferdeserum überaus empfindlich. Die anaphylaktischen Erscheinungen traten sofort auf und führten nach wenigen Minuten zum Tode. Die Blutgerinnung fand sich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deutlich verzögert, und ebenso trat ein Leukocytensturz ein. Das Tier No. 618, intraperitoneal reinjiziert, wurde nicht so schwer krank und erholte sich bald wieder von seinem anaphylaktischen Shock. Die Gerinnungsverzögerung war auch hier zu finden, die Abnahme der Leukocytenzahl erheblich.

Die übrigen Tiere verhielten sich gegen die Reinjektion von Pferdeserum refraktär, hatten keine Anaphylaxiesymptome. Das drückt sich auch in den Gerinnungszeiten aus, die keine Verzögerung zeigten. Die Leukocytenzahlen waren teils vermehrt, teils vermindert. Ein weiterer Beweis, daß die Verzögerung der Koagulationszeit ein Charakteristikum der Anaphylaxie ist, daß aber die Leukocytenzahlen damit nicht im Zusammenhang stehen.

Als Kontrollen nahmen wir diesmal Tiere, welche mit homologem Serum (von gesunden, nicht mit Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen) 24 Stunden vorher behandelt wurden und denen in gleicher Weise Pferdeserum reinjiziert wurde.

VI. Homologe passive Uebertragung mit Serum vom gesunden Meerschweinchen.

15. I. Meerschweinchen No. 746 erhielt 1 ccm Serum vom gesunden Meerschweinchen intravenös.

15. I. Meerschweinchen No. 733 erhielt 1,5 ccm Serum vom gesunden Meerschweinchen intravenös.

15. I. Meerschweinchen No. 728 erhielt 2 ccm Serum vom gesunden Meerschweinchen intraperitoneal.

16. I. Reinjektion von Pferdeserum.

Tabelle VI.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Reinjektion	Leukocytenzahl vor der Reinjektion	Dosis der Infektion Pferdeserum	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Reinjektion	Leukocytenzahl nach der Reinjektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
746	1′ — 1′ 20″ + Beg.	12 100	1,0 ccm iv.	1ʰ	55″ — 1′ +	12 400	20″ früher	keine	keine Erscheinungen
728	1′ 20″ + 1′ 05″ + Beg.	9 400	0,5 ccm iv.	1ʰ	1′ + 55″ + Beg.	12 100	10″ früher	2700 mehr	dgl.
733	1′ 05″ + 55″ + 50″ —	6 800	2,0 ccm ip.	20′	1′ 10″ + 1′ 05″ + 1′ + Beg.	6 600	5″	keine	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Meerschweinchen zeigten weder in bezug auf ihr klinisches Verhalten bemerkenswerte Aenderung noch Gerinnungshemmung noch Leukopenie.

VII. Versuche mit akut wirkenden Giften.

Es könnte möglicherweise gegen unsere Befunde der Einwand erhoben werden, daß die Verzögerung der Blutgerinnung sowie die Leukocytenstürze agonale Erscheinungen seien und bei den großen Veränderungen, welche die Agonie im Organismus bewirkt, auch eine rasche Veränderung des Blutes eintreten müsse. Wir haben deshalb eine Reihe von Meerschweinchen durch akut wirkende Gifte, und zwar El Tor-Toxin und Chloroform, vergiftet.

a) Versuche mit intravenösen Injektionen von El Tor-Toxin.

Tabelle VII.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Injektion	Leukocytenzahl vor der Injektion	Dosis der Injektion Pferdeser. iv.	Zeit der Blutentnahme nach	Gerinnungszeit nach der Injektion	Leukocytenzahl nach der Injektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
759	1′ + Beg.	6 680	0,5ccm	30′	1′ — 1′ 05″ + 1′ 10″ +	7200	5″	keine	Tier schwer krank, allgem. Krämpfe, Springkrämpfe agonal, nach 35′ tot
693	1′ — 1′ 10″ — 1′ 20″ + Beg.	10 300	1 „	30′	1′ 05″ + 1′ +	6600	20″ früher	3700	ebens. Erscheinungen, nach ½ Stunde tot
625	1′ + 55″ + Beg.	9 400	1 „	15′	1′ + Beg. 1′ 05″ +	5400	5″	4000	ebenso, nach 20′ tot
585	1′ + 55″ + Beg.	9 300	1 „	10′	1′ + 55″ + Beg.	8000	keine	1300	agonal, nach 25′ tot
540	1′ + 55″ + Beg.	8 400	0,5 „	15′	55″ + Beg. 1′ + 1′ 05″ +	4200	5″	4200	agonal, nach 18′ tot
671	50″ — 55″ — 1′ + Beg.	9 200	0,6 „	25′	1′ 10″ + 1′ 05″ + 1′ + Beg.	7900	keine	1300	agonal, nach 27′ tot

Alle Tiere boten nach kurzer Zeit das Bild schwerer Vergiftung, die bald in Agonie überging. Die Blutentnahme fand

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

statt, solange das Tier noch lebte; einige Minuten später verendeten sie. Eine Gerinnungsverzögerung zeigte sich in keinem Falle, 5" Differenz rechnen wir noch zur Fehlergrenze.

b) Versuche an tief chloroformierten Meerschweinchen.

Tabelle VIII.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Narkose	Leukocytenzahl vor der Narkose		Gerinnungszeit nach der Narkose	Leukocytenzahl nach der Narkose		Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
95	1'05" + 1' + Beg.	7600		1'05" + 1' + Beg.	9 300		keine	1700 mehr	nach 2'30" tief narkotisiert
104	1'05" + 1' + Beg. 50" —	9800		1'05" + 1' + Beg.	11 800		keine	2000 mehr	ebenso
401	1'05" + 1' + Beg.	9400		1' + Beg. 55" —	10 300		keine	900 mehr	ebenso
555	1' + 55" + Beg.	9200		1' + 55" + Beg.	10 400		keine	1200 mehr	ebenso

Aus diesen Versuchen resultiert die Tatsache, daß sich in der Chloroformnarkose die Blutgerinnung nicht ändert, dagegen ein leichter Anstieg der Leukocytenzahlen zu sehen ist.

VIII. Versuch mit intravenösen Injektionen von Hundeserum.

Tabelle IX.

Tier No.	Gerinnungszeit vor der Injektion	Leukocytenzahl vor der Injektion	Dosis der Injektion Pferdeserum	Zeit der Blutentnahme	Gerinnungszeit nach der Injektion	Leukocytenzahl nach der Injektion	Differenz der Gerinnungszeiten	Differenz der Leukocyten	Symptome
15	1' + 55" + Beg. 50" —	7 400	0,5 ccm iv.	nach 47'	55" + 50" + Beg.	8 300	5"	keine	keine deutlichen Erscheinungen
77	50" +	8 400	1,0 ccm iv.	nach 50'	55" + Beg.	8 800	5"	keine	keine deutlichen Krankh.-Ersch.
131	50" — 55" + Beg.	14 600	0,5 ccm iv.	nach 1h	55" + Beg.	15 600	keine	1000 mehr	keine

Auch Hundeserum hatte keinen Einfluß auf die Blutgerinnung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Nach den bisherigen Erfahrungen können wir also zusammenfassend sagen:

1) Die Anaphylaxie wirkt beim Meerschweinchen gerinnungshemmend und ruft eine Verminderung der Leukocytenzahl hervor; das um so ausgesprochener, je stärker die Erscheinungen der Anaphylaxie sind. Wo die Symptome geringgradig auftreten oder fehlen, ist die Gerinnungshemmung nur angedeutet oder gar nicht vorhanden.

2) Weder die Gerinnungsverzögerung noch der Leukocytensturz ist eine agonale Erscheinung, denn sie fehlt bei jeder durch akute Gifte erzeugten Agonie.

3) Ein Zusammenhang zwischen Gerinnungsverzögerung und Leukocytenzahl besteht nicht.

Greifen wir auf die klinischen Befunde von v. Pirquet und Schick, sowie Bianca Bienenfeld zurück, so finden wir die Parallelität mit dem Tierexperiment in bezug auf das Verhalten der weißen Blutkörperchen. Die Blutgerinnung bei der Serumkrankheit bedarf noch der genauen Untersuchung.

Literatur.

Biedl und Kraus, Experimentelle Studien über Anaphylaxie. Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11.

v. Pirquet und Schick, Die Serumkrankheit. Deuticke, Wien-Leipzig 1905.

Bienenfeld, B., Das Verhalten der Leukocyten bei der Serumkrankheit. Jahrb. f. Kinderheilk., N. F. Bd. 64.

Wright, A. E., British med. Journ., Vol. 2, 1893.

Richet, Charles, La presse méd., 1909.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag; Vorstand: Prof. F. Hueppe.]

Ueber das Verhalten des Komplements bei der Tuberkulinreaktion.

Von Privatdozent Dr. **Ferdinand Schenk.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Februar 1910.)

Durch die Untersuchungen von Friedberger und Hartoch[1]) ist festgestellt, daß bei Serumanaphylaxie nach Ausbruch der anaphylaktischen Symptome beim aktiv und noch deutlicher beim passiv anaphylaktischen Tier eine Komplementverarmung, die nahezu zum völligen Komplementschwund führen kann, eintritt.

Um festzustellen, ob die Tuberkulinempfindlichkeit dem Kreise der anaphylaktischen Erscheinungen, wie sie durch das Pferdeserum ausgelöst werden, nahesteht, wurden Untersuchungen angestellt, ob die für die Serumanaphylaxie charakteristische Komplementverarmung auch der Tuberkulinreaktion zukommt.

Zu diesem Zwecke wurde tuberkulösen Meerschweinchen Blut entnommen und nachher eine wechselnde Menge Tuberkulin intraperitoneal eingespritzt, die aber immer groß genug gewesen wäre, die Tiere zu töten. Zu verschiedenen Zeiten, jedoch immer dann, wenn die Tiere einen schwerkranken Eindruck machten, wurden sie entblutet und die beiden Sera auf ihren Komplementgehalt untersucht.

Versuche.

1) Einem tuberkulösen vor 10 Wochen subkutan am Halse geimpften Meerschweinchen (No. I) wurde Blut entnommen; dann Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin, nach 3 Stunden verblutet.

Obduktionsbefund: Zerstreute kleine Herde in der Leber, Milz vergrößert mit zahlreichen Herden. In der Lunge einzelne Herde, Hyperämie vorhanden, aber nicht sehr ausgesprochen. Verkäste Drüsen am Halse.

2) Einem tuberkulösen, vor 8 Wochen geimpften Meerschweinchen (No. II) wurde Blut entnommen; dann Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin; nach 3 Stunden verblutet.

Obduktionsbefund: Hochgradige Tuberkulose aller Organe, Milz hyperämisch, deutliche Lungenherde.

---

1) Friedberger und Hartoch, Zeitschr. f. Immunitätsf. und experimentelle Therapie, Bd. 3, 1909.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Einem tuberkulösen, vor 8 Wochen geimpften Meerschweinchen (No. III) wurde Blut entnommen; Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin; nach 2 Stunden verblutet.

Obduktionsbefund: Milz vergrößert, hochgradige Tuberkulose. Leber tuberkulös; Leber mit zahlreichen kleinen Hämorrhagien, Peritonealexsudat hämorrhagisch.

4) Einem tuberkulösen, vor 8 Wochen geimpften Meerschweinchen (No. IV) wurde Blut entnommen; dann 0,4 ccm Tuberkulin injiziert; nach 2 ½ Stunden verblutet.

Obduktionsbefund: Schwere allgemeine Tuberkulose, Milz vergrößert, zahlreiche tuberkulöse Herde; zahlreiche hyperämische und hämorrhagische Herde in Milz und Leber; Lungen stark tuberkulös, keine oder zweifelhafte Hämorrhagien. Netz tuberkulös.

5) Einem tuberkulösen, vor 10 Wochen geimpften Meerschweinchen (No. V) Blut entnommen; Injektion von 0,25 ccm Tuberkulin, nach 3 Stunden verblutet in fast agonalem Zustand.

Obduktionsbefund: Hochgradige allgemeine Tuberkulose in Leber und Lunge mit deutlichen Hyperämien.

6) Einem tuberkulösen, vor 8 Wochen geimpften Meerschweinchen (No. VI) Blut entnommen, 0,5 ccm Tuberkulin injiziert; nach 4 Stunden verblutet.

Obduktionsbefund: Hochgradige Milz- und Lebertuberkulose mit Hämorrhagien, Lungen stark tuberkulös ohne deutliche Reaktion.

Tabelle I [1]).

Versuchstier	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmenge in 1 ccm Volumen							
		0,25	0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,005
No. I	vor der Injektion	+	+	+	+	+	+	±	—
	3 Std. nach der Injektion	+	+	+	+	+	+	±	—
No. II	vor der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—
	3 Std. nach der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—
No. III	vor der Injektion	+	+	+	+	+	+	±	—
	2 Std. nach der Injektion	+	+	+	+	+	+	±	—
No. IV	vor der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—
	2½ Std. nach der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—
No. V	vor der Injektion	+	+	+	+	+	+	+	±
	3 Std. nach der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—
No. VI	vor der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—
	3 Std. nach der Injektion	+	+	+	+	+	±	±	—

1) + bedeutet komplette Hämolyse; ± teilweise Hämolyse; — keine Hämolyse.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man ersieht aus diesen Versuchen, daß erstens bei hochgradig tuberkulösen Tieren der Komplementgehalt des Serums stets noch ein hoher ist und den Werten, die man bei normalen Tieren findet, entspricht; es hat der Verlauf der Krankheit bis gegen die Endstadien hin keinen Einfluß auf die komplementäre Serumwirkung.

Es ruft zweitens das Tuberkulin keinen Komplementschwund hervor, wenn auch die charakteristischen Eigenschaften der Tuberkulinwirkung (Hyperämie, Hämorrhagie, Exsudation) immer deutlich ausgesprochen waren. In dieser Hinsicht also unterscheidet sich die Tuberkulinempfindlichkeit bestimmt von den Veränderungen, die der anaphylaktische Shock im Serum der Versuchstiere erzeugt.

Die geringe Komplementverminderung, die sich bei Tier No. V in den allerletzten Lebensstadien vorgefunden hat, ist wohl zu gering, als daß ihr eine besondere Bedeutung beigemessen werden könnte, zumal es sich um ein agonales Tier handelte.

Es war nur noch zu untersuchen, ob bei der passiven Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit ein Komplementschwund eintrete. Diese gelingt bei Vorbehandlung oder gleichzeitiger intraperitonealer Injektion hochgradig tuberkulösen Gewebes von einem infizierten auf ein anderes, gesundes Meerschweinchen.

Versuche.

1) Einem gesunden Meerschweinchen (No. VII) wurde Blut entnommen und hierauf Organe von einem hochgradig tuberkulösen Tier intraperitoneal injiziert (4 ccm Leber- und Milzbrei), hierauf nach $1^1/_2$ Stunden 0,5 ccm Tuberkulin intraperitoneal injiziert; nach 6 Stunden verblutet.

Obduktionsbefund: Mäßiges, vollständig steriles Exsudat; injizierte Zellen noch auffindbar.

2) Einem normalen Meerschweinchen (No. VIII) wurde Blut entnommen und hierauf Organe von einem tuberkulösen Tier intraperitoneal injiziert (4 ccm Leber- und Milzbrei), bald darauf 0,5 ccm Tuberkulin intraperitoneal. Nach 7 Stunden verblutet (schwer krank).

Obduktionsbefund: Wie bei No. VII.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Versuchstier	Blutentnahme	Hämolyse mit Komplementmenge in 1 ccm Volumen							
		0,25	0,1	0,075	0,05	0,025	0,01	0,0075	0,001
VII.	vorher	+	+	+	+	+	±	±	—
	nach 6 Std.	+	+	+	+	±	±	—	—
VIII.	vorher	+	+	+	+	+	+	±	±
	nach 7 Std.	+	+	+	+	+	±	±	±

Bei der Beurteilung dieser Experimente, die tatsächlich ein gewisses, aber nur geringes Sinken der Komplementwirkung des Serums ergeben haben, darf nicht übersehen werden, daß die Injektion von Organzellen an sich ein Mittel ist, um den Komplementgehalt herunterzusetzen (Wilde, v. Dungern).

Dieser Umstand allein kann die geringen Differenzen hinreichend erklären, und man kann daher den Schluß ziehen, daß auch bei der passiv übertragenen Tuberkulinempfindlichkeit ein erheblicher Komplementschwund nicht stattfindet. Da Friedberger, wie erwähnt, bei passiv gegen Serum anaphylaktisierten Tieren einen besonders hochgradigen Komplementschwund feststellen konnte, so unterscheidet sich auch nach dieser Richtung hin die Tuberkulinempfindlichkeit von dem Komplex der anaphylaktischen Symptome.

Im Anschluß sei noch kurz über bisher vollkommen negativ verlaufene Versuche berichtet, welche den Zweck hatten, die Antikörperbildung gegen Tuberkulose bei normalen Tieren bei gleichzeitiger Injektion tuberkulösen Gewebes zu studieren.

Wie wir in einer früheren Arbeit[1]) nachweisen konnten, bilden normale Meerschweinchen auf Injektion von Bacillenemulsion auch Antikörper, aber schwächer als infizierte und mit Tuberkulin behandelte Tiere.

Es wurde nun versucht, die Antikörperbildung auch beim normalen Tiere durch gleichzeitige Injektion von tuberkulösem Gewebe zu erhöhen. Die Versuche konnten natürlich nur dann als positiv betrachtet werden, wenn schon kurze Zeit nach der Injektion des tuberkulösen Gewebes und der Bacillenemulsion Antikörper im Blut nachweisbar waren. Ein späteres

1) Schenk, Untersuchungen über Tuberkuloseantikörper etc. Folia serologica, Bd. 2, 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auftreten derselben hätte keine Beweiskraft gehabt, weil ja die Injektion des tuberkulösen Gewebes zu einer Infektion führen mußte, mit der die raschere Antikörperbildung Hand in Hand gegangen wäre.

Versuche.

I. Gruppe. Es wurden 3 gesunden Meerschweinchen (No. IX, X, XI) 0,25 g Leberaufschwemmung von einem tuberkulösen Meerschweinchen mit 0,0001 Bacillenemulsion, nach 2 Tagen 0,5 g Leberaufschwemmung mit 0,0005 g Bacillenemulsion subkutan injiziert.

II. Gruppe. Drei gesunden Meerschweinchen (No. XII, XII, XIV) wurden 0,25 g tuberkulöse Leberaufschwemmung mit 0,0001 g Bacillenemulsion, nach 2 Tagen 0,5 g Leberaufschwemmung mit 0,0005 g Bacillenemulsion intraperitoneal injiziert.

III. Gruppe. Je 2 gesunden Meerschweinchen (No. XV, XVI, XVII, XVIII) wurden 0,25 g tuberkulöse Leberaufschwemmung, nach 2 Tagen 0,5 g Leberaufschwemmung subkutan bezw. intraperitoneal injiziert.

IV. Gruppe. Je 2 gesunden Meerschweinchen (No. XIX, XX, XXI, XXII) wurden 0,0001 g Bacillenemulsion, nach 2 Tagen 0,0005 g Bacillenemulsion subkutan bezw. intraperitoneal injiziert.

Eine Woche bezw. 10 Tage nach der zweiten Injektion wurde aus jeder Gruppe je einem Tiere Blut entnommen und ein Komplementbindungsversuch vorgenommen, als Antigen wurde Bacillenemulsion, und zwar in der Dosis von 0,1 ccm, verwendet. Die einzelnen Versuche wurden nach folgendem Schema vorgenommen:

Bezeichnung des Versuchstieres	Serummenge	Bacillenemulsion	Komplement		Sensibilisierte Hammelblutkörperchen	Resultat
—	0,2	0,1	0,1	1 Stunde bei 37°	1 ccm	—
—	0,1	0,1	0,1			—
—	0,05	0,1	0,1			—
—	0,2	—	0,1			—
—	0,1	—	0,1			—
—	0,005	—	0,1			—
—	—	0,1	0,1			—

Die einzelnen Versuche sind in den beiden folgenden Tabellen verzeichnet.

Tabelle III.

Versuchstier	Gruppe	Tag der ersten Impfung	Blutentnahme	Komplementbindung
No. XI	I	13. XII. 09	20. XII. 09	negativ
No. XII	II	13. XII. 09	20. XII. 09	„
No. XVII	III	13. XII. 09	20. XII. 09	„
No. XXI	IV	13. XII. 09	20. XII. 09	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Versuchstier	Gruppe	Tag der ersten Impfung	Blutentnahme	Komplementbindung
No. IX	I	13. XII. 09	23. XII. 09	negativ
No. XIV	II	13. XII. 09	23. XII. 09	„
No. XV	III	13. XII. 09	23. XII. 09	„
No. XXII	IV	13. XII. 09	23. XII. 09	„

Die Versuche zeigen deutlich, daß die Erwartung, in der sie unternommen waren, nicht in Erfüllung ging.

Während es Bail[1]) gelungen war, mit tuberkulösem Gewebe die Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulin auf normale Tiere zu übertragen, hatte dieses Gewebe nicht vermocht, die rasche Antikörperbildung gegen Bacillenemulsion, die ebenfalls als ein Charakteristikum der tuberkulösen Infektion betrachtet werden kann, beim normalen Tiere anzuregen.

Es existieren bereits gewisse Anhaltspunkte dafür, daß eher das Gegenteil der Fall ist, d. h. daß tuberkulöses Gewebe, tuberkulösen Tieren injiziert, auch bei diesen die Antikörperbildung unterdrücken kann.

Ueber diesbezügliche Versuche, die im Gange sind, soll später berichtet werden.

Zusammenfassung.

1) Der Komplementgehalt des Serums tuberkulöser Meerschweinchen erfährt weder im schwerkranken Zustande noch bis unmittelbar vor dem Tode des Tieres eine Aenderung.

2) Ein hochgradig tuberkulöses Tier verliert während der Tuberkulinreaktion kein Komplement.

3) Auch bei passiver Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit durch Organe tuberkulöser Tiere tritt kein Komplementverlust ein.

4) Es ist nicht gelungen, beim normalen Tiere durch gleichzeitige Zufuhr von tuberkulösem Gewebe und Tuberkulin eine Beschleunigung der Tuberkuloseantikörperbildung zu erzielen.

---

1) Bail, Uebertragung der Tuberkulinempfindlichkeit. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 4, 1909, Heft 4.

Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Am Urban, Berlin. Vorstand: Prof. Dr. L. Michaelis.]

Ueber den Mechanismus der Komplementbindungen.

Von **P. Skwirsky.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Februar 1910.)

Die Arbeiten von Ferrata[1]), dann von Hans Sachs und Teruuchi[2]), von Brand[3]), Hecker[4]) haben zu ganz neuen Ergebnissen über die Konstitution des Komplementes geführt. Sie erwiesen in erster Linie übereinstimmend, daß das Komplement, unter bestimmten Umständen, in zwei Komponenten zerfällt. Jeder einzelnen von diesen Komponenten fehlen die Eigenschaften, die für das Komplement sonst charakteristisch sind. Nur der einen Komponente — dem von Brand so genannten „Mittelstück" — kommt die Eigenschaft zu, sich unmittelbar an die vom Immunkörper beeinflußten, sensibilisierten Blutkörperchen zu verankern, während das „Endstück" nur dann seine Affinität zu den Blutkörperchen äußert, wenn zuvor das Mittelstück gebunden ist. Um einen kurzen Ausdruck für solche mit Ambozeptor und „Mittelstück" beladenen Blutkörperchen zu haben, wurde dann der Name „persensibilisierte" Blutkörperchen gewählt [L. Michaelis und P. Skwirsky[5])]. Es verhalten sich also die beiden Komponenten des Komplementes in ihren Beziehungen zueinander und zu den sensibilisierten Blutkörperchen (wie vielleicht noch in manchen anderen Beziehungen) genau so, wie das ganze Komplement resp. das Mittelstück

1) Ferrata, Die Unwirksamkeit des Komplementes in salzfreien Lösungen und ihre Ursachen. Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) H. Sachs und Teruuchi, Die Inaktivierung der Komplemente im salzfreien Medium. Ebenda, 1907, No. 16, 17, 19.

3) Brand, Ueber das Verhalten des Komplementes bei der Dialyse. Ebenda, 1907, No. 34.

4) Hecker, Arbeiten aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie, 1907.

5) L. Michaelis und P. Skwirsky, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu dem Ambozeptor und mit dem Ambozeptor beladenen Blutkörperchen. Es ist somit ein Zustand denkbar, wo die eine Komponente des Komplements gebunden sein kann, namentlich das Mittelstück, ohne daß auch das Endstück in Aktion tritt. Wenn man die beiden Gruppen des Komplements im Sinne Ehrlichs — die haptophore und zymotoxische — berücksichtigt, so würde dann dem „Mittelstück" die vermittelnde Rolle zukommen — haptophore Gruppe, während das Endstück der eigentlich wirksamen, der zymotoxischen Gruppe entsprechen würde.

Eine der Grundeigenschaften des Komplementes ist bekanntlich seine Thermolabilität: es wird seine Wirksamkeit vollständig aufgehoben nach $^1/_2$-stündigem Erwärmen auf 55° C. Es entstand bald die Frage, wie sich denn diese beiden Komponenten in dieser Beziehung verhalten. Die Beantwortung fiel aber verschieden aus. Während nach Ferrata das „Mittelstück" gegenüber dem $^1/_2$-stündigen Erwärmen auf 55° sich stabil zeigte, erwiesen sich nach den eingehenden Untersuchungen von Brand (l. c. p. 13) das End- und Mittelstück in gleichem Maße thermolabil.

Ohne auf die Entscheidung dieser prinzipiell wichtigen und interessanten Frage einzugehen, soll hier nur kurz folgendes mitgeteilt werden. Wenn man nämlich das Verhalten des Mittelstückes gegenüber dem $^1/_2$-stündigen Erhitzen auf 55° nach seiner Bindung mit sensibilisierten Blutkörperchen prüft, so erweist es sich thermostabil.

Folgender Versuch soll zur Erläuterung dieses Verhaltens dienen (siehe p. 540).

Es können nun die Bindungs- und Wirkungsbedingungen der beiden Komponenten verschieden sich gestalten. Zur Illustrierung eines derartigen Verhaltens soll hier nur ein Beispiel angeführt werden. Während bei einer bestimmten sauren Reaktion des Mediums die Hämolyse trotz der ungehinderten Bindung des Ambozeptors völlig ausbleibt[1]) und daraus zunächst die Konsequenz gezogen wird, daß das Kom-

1) L. Michaelis und P. Skwirsky, Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Bd. 4, 1909, Heft 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch I[1]).

A	B	C	D	E
Persensibilisierte Blutkörperchen (entsprechend 0,5 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung) in 1,5 ccm 0,85-proz. ClNa aufgeschwemmt u. im Wasserbade auf 55° ½ St. erhitzt	Wie in A	Entsprechend wie in A sensibilisierte Blutkörperchen ½ St. auf 55° erhitzt	Komplement (1/10) 0,5 ccm ½ St. auf 55° erhitzt	„Endstück"-enthaltende Flüssigkeit ½ St. auf 55° erhitzt
sodann zugesetzt:				
„Endstück" enthaltende Flüssigkeit	½ St. auf 55° erhitztes Komplement	„Endstück" enthaltende Flüssigkeit	a) „Endstück" enth. Flüssigkeit b) Sens. Blutkörperchen	Persensibilisierte Blutkörperchen
Resultat: Vollst. Hämolyse in 20′	Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0

plement durch die ungünstige Reaktion an seiner Bindung gehindert wird, stellt es sich bei weiteren genaueren Untersuchungen heraus, daß stark sensibilisierte Blutkörperchen eine erhöhte Affinität nur zu einer Komponente des Komplements äußern und es schließlich, trotz des Ausbleibens der Hämolyse, zur Bindung des Mittelstücks allein kommt, während das Endstück in der sauren Lösung bleibt[2]). Wenn man nun in solchem Fall abzentrifugiert und der Abguß keine Komplementeigenschaften zeigt, und andererseits die Blutkörperchen in 0,85-proz. NaCl-Aufschwemmung ungelöst bleiben, so würde man, ohne Berücksichtigung der komplexen Konstitution des Komplementes, ohne weiteres die Zerstörung des Komplementes annehmen.

1) Genaueres über die Methode der Darstellung von persensibilisierten Blutkörperchen und Endstücken findet sich p. 541 und in den zitierten Arbeiten von L. Michaelis und P. Skwirsky.

2) L. Michaelis und P. Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, 1910, Heft 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ergibt sich daraus zunächst der wichtige Schluß, daß aus dem Ausbleiben der typischen Komplementwirkung nicht ohne weiteres auf das Fehlen seiner **beiden** Komponenten zu schließen ist. Wenn bei irgendeinem Vorgang, sei es Präzipitation, Bakteriolyse oder Hämolyse, Komplement verbraucht wird, so könnte es sich um die Bindung des ganzen Komplementes, wie auch um den Verbrauch des Mittelstückes allein handeln. Wenn nun die übliche Prüfung auf „Komplementablenkung" vorgenommen wird, so würde dann in beiden Fällen das Reagens auf freies Komplement — die sensibilisierten Blutkörperchen — ungelöst bleiben. Es ist aber ohne weiteres klar, daß, wenn in einem Falle der Komplementschwund auf Bindung des ganzen Komplementes, seiner beiden Komponenten beruht, bei einer anderen Komplementablenkungsreaktion aber nur das Mittelstück gebunden wird, so muß daraus der Schluß gezogen werden, daß diese beiden Reaktionen zwar äußerlich analog, aber in Wirklichkeit nicht identisch sind.

Es soll nun in den vorliegenden Untersuchungen unter Berücksichtigung der neu gewonnenen Erfahrungen von der komplexen Konstitution des Komplementes, sein Verhalten bei den verschiedenen Bindungsreaktionen, wie verschiedenen Einflüssen gegenüber näher geprüft werden. Ehe ich zur Beschreibung einzelner Versuche übergehe, möchte ich noch kurz die in diesen Versuchen immer angewandte, von L. Michaelis und P. Skwirsky angegebene Methode beschreiben, die in verhältnismäßig einfacher Weise das isolierte Arbeiten mit persensibilisierten, d. h. mit Ambozeptor und Mittelstück des Komplementes beladenen Blutkörperchen ermöglicht.

Werden nämlich, wie oben schon erwähnt, hoch sensibilisierte (etwa 40—60-fach l. D.) Blutkörperchen in einem bestimmten sauren Medium (H-Ionen-Konzentration $= 3{,}8 \cdot 10^{-6}$ entsprechend der durchschnittlichen Reaktion sauren Harns) mit Komplement zusammengebracht, so bleibt die Hämolyse aus. Es bindet sich aber das Mittelstück des Komplementes an die sensibilisierten Blutkörperchen, und wenn nun abzentrifugiert wird, so können die so gewonnenen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

persensibilisierten Blutkörperchen als Reagens auf die andere Komponente des Komplementes, das Endstück, dienen, denn sie werden von einer Flüssigkeit, die das Endstück allein enthält, ebensogut gelöst wie sensibilisierte Blutkörperchen vom ganzen Komplement.

$\frac{1/7 \text{ norm. prim. Natriumphosphat}}{1/7 \text{ norm. sekund. Natriumphosphat}} = 16/1$	davon	1,0	ccm
	Blutkörperchen	0,5	„
	Ambozeptor 40- bis 50-fach l. D.	0,5	„
	Komplement ($1/10$)	0,5	„

1 St. bei 37° unter Umschütteln. Zentrifugiert.
Bodensatz = persensibilisierte Blutkörperchen.

Die Phosphatlösungen sind am besten immer frisch (alle 5—7 Tage) zu bereiten, da sonst durch Zersetzung des Glases, Kohlensäure der Luft, Fäulnisbakterien etc. die Reaktion der Phosphatlösungen eine geringe Verschiebung erleidet, die für den Ausfall der Versuche von wesentlicher Bedeutung sein kann.

Außerdem ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Blutkörperchen, die zur Gewinnung von persensibilisierten verwendet werden, ganz intakt, frisch sind, da sonst das saure Phosphatgemisch schädigend auf die Blutkörperchen wirken kann.

Die in den folgenden Versuchen gebrauchten persensibilisierten Blutkörperchen enthalten im allgemeinen, wo nichts angegeben ist, etwa 50-fach lösende Ambozeptordosen und Mittelstück entsprechend 0,1 Komplement auf 1,0 ccm Blutkörperchen (5 Proz.). Als freies und reines „Endstück" wurden meistens die Abgüsse von stark, unter gegebenen Verhältnissen absolut positiver Wassermannscher Reaktion benutzt (s. nächstes Kapitel).

Der Nachteil der eben beschriebenen Methode zur Gewinnung von persensibilisierten Blutkörperchen ist nur, daß man genötigt ist, mit großen Ambozeptormengen zu operieren. Es müssen dann natürlich in einzelnen Fällen die angewandten Komplementmengen entsprechend bemessen werden, ebenso wie in den Kontrollversuchen (sensibilisierte anstatt persensibilisierte) die Ambozeptordosen genau entsprechend hoch angewandt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

1. Das Verhalten des Komplementes bei den spezifischen Komplementbindungsreaktionen.

a) Bei der Wassermannschen Reaktion.

Wenn man, nachdem die Wassermannsche Reaktion einen stark positiven Ausfall zeigt (d. h. die Hämolyse, bei bestimmten Komplement- und Ambozeptormengen, völlig ausbleibt), die obenstehende Flüssigkeit abzentrifugiert — oder einfach abgießt nach dem Absetzen der Blutkörperchen —, so enthält diese Flüssigkeit kein Komplement mehr im gewöhnlichen Sinne. Wir konnten aber zeigen[1]), daß diese Flüssigkeit, auch in dem Fall, daß sie keine Komplementeigenschaften gegenüber noch so stark sensibilisierten Blutkörperchen zeigt, eine rasche, energische Hämolyse bewirkt bei Zusatz zu „persensibilisierten", d. h. zu mit Ambozeptor und „Mittelstück" beladenen Blutkörperchen. Es gestaltet sich ein derartiger Versuch folgendermaßen:

Versuch II.

Inaktiviertes Syphilitikerserum	0,1
Alkohol-Extrakt von norm. Menschenherz (1:4)	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,4
Komplement ($^1/_{15}$)	0,5
1 Stunde bei 37°. Zugefügt: Ambozeptor 40—50-fach lösende Dosis	0,5
5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung	0,5

1 Stunde im Brutschrank, wiederholt geschüttelt.

Resultat: Keine Hämolyse.

Zentrifugiert. Die obenstehende, völlig wasserklare Flüssigkeit zu persensibilisierten Blutkörperchen.

Resultat: Vollständige Hämolyse binnen 10 Min.

Es ergibt sich zunächst aus diesem Versuch, daß bei der positiven Wassermannschen Reaktion, unter bestimmten Verhältnissen, das Ausbleiben der Hämolyse auf dem Verbrauch, „Ablenkung", einer Komponente des Komplementes, und zwar des „Mittelstückes", beruht. Wird nun das Endstück überhaupt nicht verbraucht oder besteht nur ein quantitativer Unterschied, so daß das „Endstück" zwar nicht in dem Maße wie das Mittelstück, aber immerhin doch verbraucht

1) L. Michaelis und P. Skwirsky, Berliner klin. Wochenschrift, 1910, No. 4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird? Mit anderen Worten: Besteht ein quantitativer Unterschied oder eine qualitative Auswahl bei der Vernichtung einer der beiden Komponenten des Komplementes?

Wie wir im folgenden sehen werden, ist die Entscheidung dieser Frage gewissermaßen von prinzipieller, ausschlaggebender Bedeutung für den Vergleich des Verhaltens des Komplementes bei verschiedenen anderen Komplementbindungsreaktionen.

Es wurde nun folgender Weg zur Untersuchung eingeschlagen. Wenn man einen hämolytischen Versuch mit extrem hohen Ambozeptormengen ausführt, so genügen schon verhältnismäßig kleine Komplementmengen, um vollständige Hämolyse zu erzielen. Es verhalten sich die Komplement- und Ambozeptormengen — bis zu einer bestimmten Grenze — umgekehrt proportional bei der spezifischen Hämolyse. Bei Anwendung von maximal hohen Ambozeptordosen (z. B. 20-, 40-, 60-fach) genügt schon ca. $^1/_{10}$—$^1/_{15}$ derjenigen Komplementmenge, die zur Erzeugung von Hämolyse bei nur „einfach lösender" Ambozeptordosis nötig ist.

Ich verfuhr nun folgendermaßen. Es wurde ein hämolytischer Versuch ausgeführt bei hoch sensibilisierten Blutkörperchen unter Anwendung einer bestimmten aber überschüssigen Komplementmenge. Nachdem die Hämolyse vollständig war, wurde das Ganze wiederum mit ebenso hoch sensibilisierten Blutkörperchen [1]) versetzt usw. Es trat wiederholt Hämolyse ein — bis der weitere Zusatz des aufgelösten hämolytischen Systems zu frisch sensibilisierten Blutkörperchen keine Hämolyse mehr ergab, was den endgültigen Verbrauch des ganzen Komplementes anzeigte.

In einem Parallelversuche wurde zunächst die Wassermannsche Reaktion unter gleichen Bedingungen, d. h. unter Anwendung derselben Komplement- und Ambozeptormengen, wie im eben beschriebenen Versuche, ausgeführt. Nachdem hier die Hämolyse vollständig ausgeblieben war, wurde zentrifugiert und der Abguß zu entsprechend persensibili-

1) Die Blutkörperchen wurden vorher sensibilisiert, dann zentrifugiert und nur die Bodensätze verwendet, um eine bedeutende Aenderung des Volumens zu vermeiden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sierten Blutkörperchen zugesetzt, nach eingetretener Hämolyse das Ganze wiederum mit persensibilisierten Blutkörperchen versetzt etc. etc. Es trat Hämolyse mindestens ebensoviele Male hintereinander wie im ersten Versuch ein — in manchen Fällen noch öfter.

In diesen, wie in allen folgenden Versuchen wurde 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung, als Komplement verschiedenfach verdünntes, frisches Meerschweinchenserum, und als Immunkörper vorbehandeltes Kaninchenserum benutzt. Für die Wassermannsche Reaktion wurden vorher ausprobierte, stark hemmende Syphilitikersera verwendet.

Versuch III.

A		B	
Inakt. Syphilitikerserum	0,1	Komplement ($^1/_{15}$)	0,5
Alkohol. Herzextrakt ($^1/_4$)	0,5	0,85-proz. ClNa-Lösung	1,0
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,4		
Komplement ($^1/_{15}$)	0,5		
1 Stunde bei 37°.		1 Stunde bei 37°.	
Das Ganze zu 50-fach sensibilisierten Blutkörperchen (0,5). Resultat: Keine Hämolyse.			
Zentrifugiert. Abguß zu:		1) Das Ganze zu entsprechend sensibilisierten (50-fach) Blutkörperchen (0,5).	
1) „persensibilisierten" Blutkörperchen (0,5). Resultat: Nach 15 Min. komplette Lösung.		Resultat: Nach 20 Min. komplette Lösung.	
2) Das Ganze zu persensibilisierten Blutkörperchen (0,5). Resultat: Nach 25 Min. komplette Lösung.		2) Das Ganze zu ebenso sensibilisierten Blutkörperchen (0,5). Resultat: Nach 45 Min. komplette Lösung.	
3) Das Ganze zu persensibilisierten Blutkörperchen (0,5) Resultat: Komplett in 1 Std.		3) Das Ganze zu sensibilisierten Blutkörperchen (0,5). Resultat: Spur Hämolyse in 2 Std.	
4) Das Ganze zu persensibilisierten Blutkörperchen. Resultat: 0.		4) 0.	

Aber auch dann, wenn man mit den kleinsten Mengen von Komplement die Wassermannsche Reaktion ausführt, z. B. nur mit dem 5. Teil derjenigen Komplementmenge, die bei Verwendung eines bestimmten Syphilitikerserums noch vollständige Hemmung der Hämolyse (bei gegebenen Ambo-

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

zeptor- und Blutkörperchenmengen) ergibt, auch dann erweisen sich die Abgüsse komplettierend für persensibilisierte Blutkörperchen. Natürlich muß diese Komplementmenge so bemessen werden, daß sie für die Hämolyse der entsprechend sensibilisierten Blutkörperchen vollständig ausreicht (s. Kontrolle).

Versuch IV.

A		B	
Inakt. Syphilitikerserum	0,1	Dasselbe Serum wie in A	0,1
Alkohol. Herzextrakt ($^1/_4$)	0,5	Alkohol. Herzextrakt	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,4	0,85-proz. ClNa-Lösung	0,4
Komplement ($^1/_{10}$)	0,5	Komplement ($^1/_{40}$)	0,5
Nach 1-stünd. Aufenthalt bei 37° das Ganze zu 50-fach sensibilisierten Blutkörperchen.		Nach 1 Std. zu persensibilisierten Blutkörperchen.	
Resultat: Keine Hämolyse.		Resultat: Komplett gelöst in 40 Min.	
		Kontrolle:	
		Komplement ($^1/_{40}$)	0,5
		0,85-proz. ClNa-Lösung	1,5
		50-fach sensib. Blutkörperchen	0,5
		Resultat: Komplette Lösung in 1 Stunde.	

Es ergibt sich zunächst mit aller Deutlichkeit aus diesen Versuchen, daß es sich bei der Komplementablenkungsreaktion, wie sie durch „Antigen" (Alkohol-Normal-Herzextrakt) + Antistoff (Luetikerserum) zustande kommt, um einen Verbrauch nur einer Komponente des Komplementes, und zwar des Mittelstückes allein, handelt. Das Endstück dagegen bleibt frei, quantitativ und unbeschädigt in Lösung und kann bei Zusatz zu persensibilisierten Blutkörperchen komplettierend wirken.

Wir besitzen bei der absolut positiv ausfallenden Wassermannschen Reaktion in dem Gemische Komplement — Serum — Extrakt — eine Flüssigkeit, die reines Endstück enthält und als solches für methodische Zwecke benutzt werden kann.

Wie nun aus den folgenden Versuchen zu ersehen sein wird, kann dieses Verhalten des Komplementes bei der Wassermannschen Reaktion in gewissem Sinne wesentlich zur theoretischen Erläuterung der Reaktion beitragen. Seitdem nämlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zuerst Levaditi und Marie[1]), Landsteiner, Müller und Pötzl[2]) nachgewiesen haben, daß die Wassermannsche Luesreaktion auch ebensogut gelingt, wenn man anstatt des wässerigen Extraktes einer syphilitischen, Spirochäten enthaltenden Leber wässerige Auszüge aus normalen Organen benutzt, und es sich schließlich durch die Untersuchungen einer ganzen Reihe von Forschern — Levaditi und Yamanouchi[3]), L. Michaelis[4]), K. Landsteiner, B. Müller und O. Pötzl[5]), Porges und Meyer[6]) — herausstellte, daß das von Wassermann und seinen Mitarbeitern[7])[8]) ursprünglich supponierte Spirochätenantigen in Wirklichkeit durch jedes Organlipoid ersetzt werden kann, wurde die Spezifität der bei der Reaktion beteiligten Agentien angezweifelt. Es wurde von manchen Autoren, besonders von Bauer, Seligmann u. a. die Vermutung ausgesprochen, daß die Komplementbindung, die ja sonst für das Zusammentreffen von Antigen-Antikörper charakteristisch ist[9]), bei der Wassermannschen Luesreaktion auf einer nicht spezifischen physikalischen Absorption des Komplementes beruht. Einerseits lenken die syphilitischen Sera für sich allein etwas ab, zweitens tun es noch in höherem Maße die Extraktlipoide und so ergebe sich eine einfache unspezifische Summationswirkung auf das Komplement, die eine „echte" Komplementablenkung im Sinne von Bordet-Gengou vortäusche.

---

1) Levaditi und Marie, Les „anticorps syphilitics" dans le liquide cephalorhachidien des paralyt. généraux et des tabétiques. Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 21, 1907.

2) Landsteiner, Müller und Pötzl, Wien. klin. Wochenschr., 1907.

3) Levaditi und Yamanouchi, Le sérodiagnostic de la Syphilis. Soc. Biol., T. 53.

4) L. Michaelis, Berlin. klin. Wochenschr., 1907, No. 35.

5) Landsteiner, Müller und Pötzl, Zur Frage der Komplementbindung bei Syphilis. Wiener klin. Wochenschr., 1907.

6) Porges und Meyer, Berl. klin. Wochenschr., 1907.

7) A. Wassermann, C. Bruck und A. Neisser, Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis.

8) A. Wassermann, Neisser, Bruck und Schlucht, Weitere Mitteilung über den Nachweis spezifischer luetischer Substanzen durch Komplementverankerung. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55, 1906.

9) Gengou, Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuménoides. Ann. de l'Inst. Pasteur, T. 16, 1902.

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Ohne zunächst auf die Frage der „Echtheit“ oder „Unechtheit“ der bei der Luesreaktion beteiligten Antigene und Antikörper einzugehen, soll hier das Verhalten des Komplements bei der anderen Antigen-Antistoffreaktion noch einer Prüfung unterworfen werden.

b) Das Verhalten des Komplements bezw. beider seiner Komponenten bei der „Tuberkulin-Antituberkulin“-Komplementbindung.

Die Untersuchung geschah in derselben Weise, wie bei der Wassermannschen Reaktion geschildert. Es wurden stark positiv reagierende Sera eventuell mit Tuberkulin vorbehandelter Patienten für die Ausführung der Ablenkungsreaktionen benutzt.

Versuch V.

1	2	3	4
In.-Serum a 0,1 Neu-Tuberk. Koch-Bac.-Em. ($^1/_{10}$) 0,5 Kompl. ($^1/_{20}$) 0,5 0,85-proz. ClNa-Lösung 0,4	In.-Serum a 0,1 Neu-Tuberk.-Koch-Bac.-Em. ($^1/_{10}$) 0,5 Kompl. ($^1/_{20}$) 0,5 0,85-proz. ClNa-Lösung 0,4	In.-Serum b 0,1 Neu-Tuberk.-Bac.-Em. ($^1/_{10}$) 0,5 Kompl. ($^1/_{15}$) 0,5 0,85-proz. ClNa-Lösung 0,4	In.-Serum b 0,1 Neu-Tuberk. Bac.-Em. ($^1/_{10}$) 0,5 Kompl. ($^1/_{15}$) 0,5 0,85-pr. ClNa-Lösung 0,4
1 Stunde bei 37°			
Dazu: Persensibilis. Blutkörperch. 0,5 Res.: Komplette Lösung n. 15 Min.	Dazu: Sensibilisierte (entsprechend 1) Blutkörperch. 0,5 Resultat: 0	Dazu: Persensibilis. Blutkörperch. 0,5 Res.: Komplette Lösung in 15 Min.	Dazu: Sensibilisierte Blutkörperch. 0,5 Resultat: 0

Nun lenken häufig die positiv reagierenden Sera Tuberkulöser oft schon für sich allein das Komplement in bedeutendem Maße ab[1]). Es war daher von besonderem Interesse, zu prüfen, wie sich denn in solchen Fällen, d. h. bei der Ablenkung, die auf Rechnung der Sera allein zu beziehen ist, das Komplement verhält. Es wurde für diesen Zweck in folgendem Versuch das Tuberkulose-Immunserum einer mit

1) Untersuchungen über diesen Gegenstand aus dem hiesigen Laboratorium werden demnächst erscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tuberkulin vorbehandelten Kuh benutzt, sowie verschiedene Patientensera.

Versuch VI.

A (Serum allein)		B	
Spezif. Tub.-Immunserum K.	0,2	Spezif. Tub.-Immunserum K.	0,1
Komplement ($^1/_{30}$)	0,5	N.-Tub.-Koch-Bac.-Em. ($^1/_{10}$)	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,3	Komplement ($^1/_{30}$)	0,5
		0,85-proz. ClNa-Lösung	0,9
1 Stunde bei 37°			
Dazu:		Dazu:	
50-f. sensibil. Blutkörperchen	(0,5)	50-f. sensibil. Blutkörperchen	(0,5)
Resultat: Keine Hämolyse		Resultat: Keine Hämolyse	
Zentrifugiert			
Abguß + persensibilisierte Blutkörperchen		Abguß + persensibilisierte Blutkörperchen	
Resultat: Komplette Lösung in ca. 35 Minuten		Resultat: Komplette Lösung in ca. 40 Minuten	

Versuch VII.

	Pat.-Serum K. (lenkt an sich allein unbedeutend ab		Pat.-Serum Sch. (lenkt an sich stark ab)		Spez. Tbk. Kuhserum (an sich starke Ablenkung)	
	A	A¹ (Kontr.)	B	B¹ (Kontr.)	C	C¹ (Kontr.)
Inaktiviertes Serum	0,1	0,1	0,25	0,25	0,1	0,1
Neutub.-Koch-Bac.-Emulsion ($^1/_{10}$)	0,5	0,5	0,0	0,0	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa	0,9	0,9	1,25	1,25	0,9	0,9
Komplement ($^1/_{35}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Nach 1-stündigen Verweilen im Brutschrank.						
	Persens. 0,5	Sensib. 0,5	Persens. 0,5	Sensib. 0,5	Persens. —	Sensib. —
Resultat:	kompl. Lösung	0	kompl.	0	kompl.	0

Es verhält sich also das Komplement bei der Tuberkulin-Antituberkulin-Bindung genau so, wie bei der Luesreaktion. Es ergibt sich außerdem aus diesen Versuchen, daß die Komplementbindung, wie sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch das Tuberkuloseimmunserum allein zustande kommt, in derselben Weise sich verhält.

Ich gehe nun zur Prüfung des Verhaltens des Komplementes bei den anerkannt echten Antigen-Antikörperbindungen. Als „echte" Antigene werden nach der bis heute geltenden Auffassung nur Eiweißkörper anerkannt. Denn nur für diese ist der Nachweis erbracht worden — zuerst von Gengou[1]), dem sich dann eine Reihe anderer Forscher anschlossen — daß sie nach Injektion in Tierkörper Ambozeptoren, Antikörper (Bordet-Antikörper) erzeugen können. Die Ambozeptornatur der so erzeugten Antikörper erschloß Gengou aus der Fähigkeit der Komplementbindung bei dem Zusammentreffen mit dem entsprechenden, zur Injektion verwendeten Antigen. Gerade weil diese Hauptcharakteristika der Antigene und Antikörper für die bei der Wassermannschen Reaktion beteiligten Agentien nicht im vollen Maße zutreffen, ist es versucht worden, diese Reaktion aus der Reihe der echten Komplementablenkungsreaktionen auszuschließen, wie oben schon erwähnt.

c) Das Verhalten des Komplements bei der Präzipitation.

Es wurde in diesen Versuchen Kaninchenserum als Präzipitin und Pferdeserum als präzipitable Substanz (Präzipitogen) benutzt.

Versuch VIII.

	A	A¹	B	B¹
Spez. Kaninchenser.	0,1	0,1	0,1	0,1
Pferdeserum ($^1/_{500}$)	0,5	0,5	0,5	0,5
Komplement ($^1/_{20}$)	0,5	0,5	1,0	1,0
0,85-proz. ClNa	0,9	0,9	0,4	0,4
1 Stunde bei 37°.				
	Dazu: Persensibilis. Blutk. (0,5)	Dazu: Sensibilisierte Blutk. (0,5)	Dazu: Persensibilis. Blutk. (0,5)	Dazu: Sensibilisierte Blutk. (0,5)
Resultat:	komplett	0	komplett	komplett

1) Gengou, Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoides. Annales de l'Institut Pasteur, T. 16, 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch IX.

	A	A¹	B	B¹	C	C¹
Spez. Kaninchenser.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Pferdeserum ($^1/_{400}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Komplement ($^1/_{20}$)	0,5	0,5	1,0	1,0	1,5	1,5
0,85-proz. ClNa	0,9	0,9	0,4	0,4	0,0	0,0
1 Stunde bei 37°						
	Dazu: Persens. Blutk. (0,5)	Dazu: Sensibil. Blutk. 0,5	Dazu: Persens. Blutk.	Dazu: Sensibil. Blutk.	Dazu: Persens. Blutk. (0,5)	Dazu: Sensibil. Blutk. 0,5
Resultat:	komplett	0	komplett	Sp. gel.	komplett	komplett

Versuch X.

(Pferdeserum, wie in Versuch VIII, in größerer Verdünnung.)

	A	A¹	B	B¹	C	C¹
Pferdeserum $^1/_{100}$	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Kaninchenserum	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Komplement ($^1/_{20}$)	0,5	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1
0,85-proz. NaCl	0,9	0,9	0,2	1,2	1,3	1,3
1 Stunde im Brutschrank.						
	+ Persens.	+ Sensibil.	+ Persens.	+ Sensibil.	+ Persens.	+ Sensibil.
Resultat:	kompl.	kompl.	kompl.	0	unvollst. Hämol.	0

Wir haben nun einen Ueberblick über die Bindung des Komplements bei drei verschiedenen Reaktionen, wie Präzipitation, Wassermannsche Luesreaktion und Tuberkulin-Antituberkulinbindung. In allen eben genannten Reaktionen fungieren ganz — chemisch wie biologisch — verschiedene Agentien als Antigene und Antikörper. Aber ihnen allen gemeinsam ist, daß sie in letzter Linie doch als spezifische Bindungen zu betrachten sind. Und es verhalten sich beide Komponenten des Komplements, wie aus unseren Versuchen mit Deutlichkeit zu ersehen ist, in ganz analoger Weise bei der Wassermannschen Reaktion wie bei der Präzipitation und bei der Tuberkulin-Antituberkulinablenkung. Gerade dieses allgemeine, gemeinsame Charakteristikum scheint uns dazu geeignet, den abweichenden, speziellen Deutungen der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Komplementbindung bei jeder dieser Reaktionen, besonders aber der Wassermannschen und der Präzipitation, entgegenzutreten. Es bleiben uns die intimsten Vorgänge, die sich bei allen diesen Komplementbindungen abspielen, noch immer verschlossen. Solange wir aber kein genügendes Kriterium zur Unterscheidung aller oben genannten Komplementbindungsreaktionen haben, solange insbesondere die auf Grund der neuesten Erfahrungen über die komplexe Natur des Komplements gewonnenen Tatsachen zu keinem Unterschiede führen, müssen wir daran wenigstens festhalten, daß ein allgemeines, gemeinsames Moment bezw. Gesetz bei allen diesen Reaktionen ausschlaggebend ist für die Natur der Komplementbindung. Wir werden weiter sehen, daß dieses Verhalten des Komplements, wie es für die eben besprochenen Reaktionen typisch ist, für andere Arten von Komplementbindung, in erster Linie für die spezifische Hämolyse, in keiner Weise zutrifft. Die Komplementbindung bei der spezifischen Hämolyse ist es gerade, die von Anfang an, besonders aber in den letzten Jahren, Gegenstand umfangreicher und wertvoller Untersuchungen war. Denn hier, ebenso wie bei der Bakteriolyse, äußert sich die Intervention des Komplementes nicht nur in seinem Verbrauch, sondern in einer sichtbaren Wirkung: Auflösung der Zellen. Und wenn nun als gemeinsames Moment bei allen Komplementbindungsreaktionen der Verbrauch des Komplements gilt, so haben wir eben gesehen, daß in einer Reihe solcher Vorgänge, deren gemeinsames Charakteristikum dasjenige ist, daß sie im allgemeinen Antigen-Antikörperreaktionen darstellen, dieser Verbrauch sich nur auf einen der beiden Faktoren bezieht.

Aus den Untersuchungen der oben erwähnten Autoren [Ferrata[1]), Brand[2])] geht aber unzweideutig hervor, daß die Cytolyse, die sichtbare Wirkung, die Auflösung (spezifische Hämolyse) nur durch die Beteiligung beider Komponenten bedingt sein kann. Mit anderen Worten, es ändert sich der Mechanismus der Komplementbindung bei den „Antigen-Antikörperreaktionen", wenn als Antigen nicht Zellen fungieren

1) Ferrata, l. c.
2) Brand, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und andererseits die Komplementwirkung sich in einer sichtbaren, physikalischen Reaktion, in der Auflösung von Zellen äußert. Diese Feststellung gibt uns vor allem ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal, das bei der Beurteilung und vergleichenden Analyse der Natur der erwähnten Komplementbindungsreaktionen von wesentlicher Bedeutung sich erweisen kann. Wir werden im weiteren Verlauf unserer Ausführungen noch Gelegenheit haben, auf diese Fragen zurückzugreifen. Zunächst soll hier aber die Komplementbindung bei der spezifischen Hämolyse noch in einem anderen Punkte näher geprüft werden. Denn trotz der als endgültig zu betrachtenden Feststellungen von Ferrata und Brand von der Beteiligung beider Komplementkomponenten bei der spezifischen Hämolyse, drängt sich doch erstens angesichts des von uns festgesetzten Verhaltens des Komplements bei andersartigen spezifischen Komplementbindungen, andererseits aber wegen des so oft hervorgehobenen fermentativen Charakters des Komplements die weitere Frage auf: handelt es sich bei dem Verbrauche des Komplementes im Prozeß der spezifischen Hämolyse nur um eine Beteiligung beider Komponenten durch ihre bloße Anwesenheit wie ein Ferment, oder um einen wirklichen, quantitativen Verbrauch des End- und Mittelstückes? Denn wenn es als vollständig sicher zu betrachten ist, daß das Mittelstück nach seiner Bindung ebenso wie der Immunkörper endgültig verbraucht wird, so könnte es sich so verhalten, daß trotz der Beteiligung auch des Endstückes es sich hier anders verhielte. Mit anderen Worten, wir stellten die Frage auf: Handelt es sich bei der spezifischen Hämolyse um eine Bindung des Mittelstückes allein unter fermentativer Mitwirkung des Endstückes, oder aber werden beide Teile — entgegen anderen Komplementbindungsreaktionen — gleich und quantitativ verbraucht? Es ist schon diese Frage verschiedentlich aufgeworfen worden in bezug auf die Komplementwirkung überhaupt. Manche Autoren glaubten sogar die Fermentnatur des Komplementes endgültig behaupten zu können, und stützten sich dabei besonders auch darauf [vergl. Jul. Kiss[1])],

1) Julius Kiss, Untersuchungen über die Fermentnatur des Komplementes. Zeitschr. für Immunitätsforschung, 1909, Heft 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß bei großen Ambozeptormengen man schon mit minimalen Komplementdosen eine Wirkung bei der Hämolyse erzielen kann. Es verhalten sich nämlich die Ambozeptor- und Komplementmengen umgekehrt proportional bei der spezifischen Hämolyse, wie schon Morgenroth und H. Sachs hervorgehoben haben. Aber dies gilt nur bis zu einer bestimmten, ziemlich engen Grenze, wie wir auch selbst feststellen konnten. Bei Anwendung extrem großer Ambozeptormengen genügt schon etwa der zehnte Teil der sonst notwendigen Komplementmenge zur Erzielung einer Wirkung, aber was die Hauptsache ist, dieses Minimum läßt sich nicht mehr reduzieren, und was noch wichtiger für die Beurteilung der Frage ist, es wird dieses notwendige Minimum bei der Hämolyse endgültig, irreversibel verbraucht.

Bei dieser Sachlage das Komplement einfach als Ferment zu taufen, scheint uns ungerechtfertigt.

Es könnte sich nun aber so verhalten, daß zunächst das ganze Komplement sich z. B. an die roten Blutkörperchen bindet, daß aber nachträglich, nach stattgefundener Wirkung — in diesem Falle Hämolyse — das Endstück wieder frei, unverbraucht erscheint, also um eine intermediäre Bindung des Endstückes, wie sie gerade den echten Fermenten zugeschrieben wird. Wir gehen daher direkt an die Prüfung der Frage heran, die in erster Linie das entscheidende Moment abgibt, nämlich: wird das als Ferment supponierte Endstück bei der spezifischen Hämolyse endgültig verbraucht, oder aber kann es immer wieder gewonnen werden und seine Wirkung gewissermaßen unendlich oft ausüben bei Zugabe zu persensibilisierten, d. h. mit Ambozeptor und Mittelstück des Komplementes beladenen Blutkörperchen?

Wir bedienten uns bei den folgenden Versuchen des gleichen Verfahrens, das schon oben bei der Untersuchung einer verwandten Frage beschrieben und verwendet worden war. Es wird ein hämolytischer Versuch ausgeführt unter Anwendung bestimmter Komplementmengen. Nach stattgefundener Auflösung wird das Ganze zu persensibilisierten Blutkörperchen zugesetzt und bei eintretender Hämolyse das Ganze wiederum mit persensibilisierten Blutkörperchen versetzt und die etwa eintretende Hämolyse beobachtet etc. Zum Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gleich werden parallel, unter Anwendung derselben Komplementmengen, dieselben Versuche mit sensibilisierten Blutkörperchen ausgeführt. Wir bemerken von vornherein, daß sich dabei kein wesentlicher Unterschied zeigte.

Versuch X.

	1	1a	2	2a	3	3a
Komplement ($^1/_{10}$)	0,2	0,2	0,1	0,1	0,05	0,05
Ambozeptor 5-fach	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
5 Proz. Blutkörperchen	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,3	1,3	1,4	1,4	1,45	1,45
	Resultat nach $1^1/_2$ Stunde bei 37° und wiederholtem Schütteln					
	Schl.	Schl.	Hämolyse zu ca. $^1/_2$	Hämolyse zu ca. $^1/_2$	Spur Hämolyse	Spur Hämolyse
	Das Ganze zu Bodensatz von (40-fach) persensibilisierten abzentrifugierten Blutkörperchen 0,5	Das Ganze zu Bodensatz von (40-fach) sensibilisierten abzentrifug. Blutkörperchen (0,5)	Zentrifugiert. Abguß + Bodensatz von persensibilisierten (40-fach) Blutkörperchen (0,5)	Zentrifugiert. Abguß + Bodensatz von sensibilisierten (40-fach) Blutkörperchen (0,5)	Zentrifugiert. Abguß + Bodensatz von persensibilisierten Blutkörperchen	Zentrifugiert. Abguß + Bodensatz von sensibilisierten (40-fach) Blutkörperchen (0,5)
Resultat	kpl. Lösung binnen 20′	komplett gelöst in $^1/_2{}^h$	komplett in 1^h	komplett in $1^1/_2{}^h$	unvollständ. Hämolyse	unvollständ. Hämolyse
	Das Ganze zu Bodensatz von (40-fach) persensibilisierten abzentrifugierten Blutkörperchen	Das Ganze zu Bodensatz von (40-fach) sensibilisierten abzentrifugierten Blutkörperchen	Das Ganze + Bodensatz von persensibilisierten Blutkörperchen	Das Ganze + Bodensatz von sensibilisierten Blutkörperchen	Das Ganze + Bodensatz von persensibilisierten Blutkörperchen	Das Ganze + Bodensatz von sensibilisierten Blutkörperchen
Resultat	0 (nach 24^h)	0 (nach 24^h)	0 (nach 24^h)	0 (nach 24^h)	0 (nach 24^h)	0 (nach 24^h)

Es wurde dieser Versuch unter verschiedenen Modifikationen, bei extrem wechselnden Ambozeptormengen etc. wiederholt ausgeführt und immer zum gleichen Resultat gelangt. Bei Anwendung kleiner Komplementmengen und mittleren Ambozeptordosen kann es zuerst zu unvollständiger oder auch nur spurweiser Hämolyse kommen (siehe Tabelle, Kolumne 3, 3a), aber das ganze Komplement wird trotzdem

Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Versuch XI.

	1	1a	2	2a
Komplement $^1/_{10}$	0,5	0,5	0,25	0,25
Ambozeptor 1--$1^1/_2$-fache l. D.	0,5	0,5	0,5	0,5
5 Proz. Blutkörperchen	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,0	1,0	1,25	1,25
	Nach ca. $1^1/_4$ Stunden komplett		Nach $1^1/_2$—2 Stunden etwas Hämolyse. Zentrifugiert	
	Das Ganze zu 1) persensibilisierten Blutkörperchen (0,5)	Das Ganze zu 1) sensibilisierten (40-fach) Blutkörper. (0,5)	Der Abguß zu 1) persensibilisierten Blutkörperchen (0,5)	Der Abguß zu 1) sensibilisierten (40-fach) Blutkörperchen
Resultat	kpl. Lösung in 15—10′	kpl. Lösung in $^1/_2{}^h$	kpl. Lösung in 1^h	komplett in $1^1/_4$—$1^1/_2{}^h$
	Das Ganze zu 2) persensibilisierten Blutkörperchen (0,5)	Das Ganze zu 2) sensibilisierten Blutkörperchen (40-fach 0,5)	Das Ganze zu 2) persensibilisierten Blutkörperchen	Das Ganze zu 2) sensibilisierten Blutkörperchen (40-fach 0,5)
Resultat	komplett in $^3/_4{}^h$	komplett in 1—$1^1/_4{}^h$	0	0
	Das Ganze zu 3) persensibilisierten Blutkörperchen (0,5)	Das Ganze zu 3) sensibilisierten Blutkörperchen (40-fach 0,5)		
Resultat	unvollständ. Hämolyse	unvollständ. Hämolyse		
	Zentrifugiert			
	4) Abguß + persensibilisierte Blutkörperchen	4) Abguß + sensibilisierte Blutkörperchen		
Resultat	0	0		

zuerst noch nicht verbraucht und erst bei Zugabe zu hoch sensibilisierten Blutkörperchen äußert sich die Affinität des Komplementes zu den Blutkörperchen in erhöhtem Maße und es wird nunmehr auch vollständig in seinen beiden Komponenten verbraucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn wir nun bedenken, daß es zu den Grundeigenschaften eines Fermentes gehört, 1) daß es auch in kleinsten Mengen noch seine Wirkung entfaltet; 2) aber auch, daß es nach der stattgefundenen Wirkung wieder frei wird und von neuem seine Wirkung ungeschwächt äußert, so trifft das weder für das ganze Komplement, noch für eine seiner Komponenten (speziell das Endstück) zu. Außerdem ist aus diesen Versuchen (X, XI) der Schluß zu ziehen, daß die spezifische Hämolyse, entgegen den oben angeführten Komplementbindungsreaktionen, nur unter quantitativer Beteiligung und Verbrauch des ganzen Komplementkomplexes vor sich gehen kann.

Ein einziger Einwand wäre noch möglich. Das allmähliche Nachlassen der Wirkung des Endstückes könnte darauf beruhen, daß es zwar nicht verbraucht wird, aber durch die Produkte der Hämolyse in seiner Wirkung gehemmt wird. Diese Frage müssen wir bisher noch offen lassen.

Ehe ich nun in der Verfolgung des Komplementbindungsmechanismus bei andersartigen Reaktionen weiter gehe, soll hier kurz ein Versuch angeführt werden, dessen Ausfall zwar, wie wir vorgreifend bemerken wollen, zu keinem bestimmten, sicheren Schluß berechtigt, aber dennoch von bestimmten theoretischen Interesse ist.

Es wurde nämlich die Frage aufgeworfen: ist die einmal stattgefundene Bindung des Mittelstücks an die sensibilisierten Blutkörperchen noch reversibel? Es lag nahe, die Beziehung des Mittelstücks zu den sensibilisierten Blutkörperchen mit derjenigen des Ambozeptors zu frischen Blutkörperchen in Parallele zu setzen. Morgenroth[1]) konnte nämlich zeigen, daß, nachdem Blutkörperchen mit verschieden hohen Ambozeptordosen behandelt waren, sie die Fähigkeit besaßen, frisch hinzugefügte Blutkörperchen mittels des von ihnen aufgenommenen Ambozeptors zu sensibilisieren. Es findet so (nach Morgenroth) ein Ueberspringen des Ambozeptors von den sensibilisierten zu den frisch hinzugefügten Blutkörperchen statt.

1) Morgenroth, Ueber die Bindung hämolytischer Ambozeptoren. Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieses Phänomen konnte aber nicht mehr hervorgebracht werden, wenn gleichzeitig mit der Zugabe von frischen Blutkörperchen auch Komplement zugesetzt wird. „Es folgt daraus, daß die Besetzung der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors auch eine erhöhte Haftfähigkeit der cytophilen Gruppe bedingt“ (l. c.). Es wurde nun zunächst versucht, festzustellen, ob, nachdem die Blutkörperchen mit Ambozeptor und Mittelstück beladen waren — also nach der Ehrlich-Morgenrothschen Auffassung, die komplementophile Gruppe des Ambozeptors besetzt ist — ein „Ueberspringen“ des Ambozeptors, eventuell auch des Mittelstücks, auf frisch hinzugefügte Blutkörperchen noch stattfinden kann (Versuch XII). Der Ausfall des diesbezüglichen Versuches zeigt in der Tat, daß diese Möglichkeit vollkommen vorhanden ist.

In einem anderen Versuche (Versuch XIII) wurden dann zu persensibilisierten Blutkörperchen sensibilisierte hinzugefügt, dann „Endstück“ enthaltende Flüssigkeit und nun nachgesehen, ob die frisch hinzugefügten, sensibilisierten Blutkörperchen sich lösen. Es zeigte der Versuch ein negatives Ergebnis. Es ist also die Bindung des Mittelstücks an sensibilisierte Blutkörperchen unter den oben beschriebenen Bedingungen **nicht** reversibel.

Versuch XII.

(Dreimal identisch und mit gleichem Resultat ausgeführt.)

	Kontrolle
Persensibilisierte Blutkörperchen (entsprech. Ambozeptor 40-fach, Kompl. 0,1) 1,0, 2- bis 4mal gewaschen und zentrifugiert. Schließlich aufgeschwemmt in 3,0 ccm 0,85-proz. ClNa-Lösung.	Sensibilisierte Blutkörperchen 1,0 3mal gewaschen, zentrifugiert und in physiologischer ClNa-Lösung aufgeschwemmt.
Dazu: 1,0 ccm frische Blutkörperchen.	Dazu: 1,0 ccm fr. Blutk.
Nach 1 Stunde und wiederholtem Schütteln Komplement ($^1/_{10}$) 1,0	1 Stunde bei 37°, dann Komplement ($^1/_{10}$) 1,0
Resultat: Nach $^1/_2$ Stunde zeigt sich vollständige Hämolyse sowohl der persensibilisierten wie der frisch hinzugefügten Blutkörperchen.	Nach 2 Stunden fast komplette Lösung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch XIII.

(Dreimal identisch ausgeführt.)

Persensibilisierte Blutkörperchen (0,5) gewaschen, zentrifugiert und in 1,5 ccm 0,85-proz. ClNa-Lösung aufgenommen.

Dazu:

1) 0,5 ccm sensibilisierte (40-fach) Blutkörperchen 1 Stunde bei 37°, dann
2) „Endstück" (entsprechend Komplement 0,1)[1]).

Resultat: Nach 2-stünd. Stehen bei 37° und Schütteln zeigt sich nur eine teilweise Hämolyse, die auf die persensibilisierten Blutkörperchen allein zu beziehen ist.

Es lassen sich aus den eben beschriebenen Versuchen meines Erachtens nach keine bestimmten bindenden Schlüsse ziehen. Einerseits scheint es sich so zu verhalten, daß die Bindung des Komplementmittelstückes nicht nur keine Hemmung für die nachträgliche Reversibilität der Ambozeptorbindung darstellt, sondern eher noch stimulierend, beschleunigend wirkt: es wird der Ambozeptor gewissermaßen noch mobiler (Versuch XII). Dieses Verhalten würde der von Ehrlich und Morgenroth vertretenen Theorie von der direkten Bindung zwischen Ambozeptor und Komplement, von der „Besetzung der komplementophilen Gruppe" in ganz bestimmtem Sinne widersprechen. Andererseits aber muß bei der Beschreibung dieser Versuche noch folgendes in Erwägung gezogen werden. Es sind nämlich die Ambozeptormengen, mit denen die Blutkörperchen in unseren Versuchen beladen sind, unverhältnismäßig hoch, namentlich im Vergleich mit den angewandten Komplement- resp. „Mittelstück"-Mengen. Nun könnte es sich so verhalten, daß zwar durch das Komplementmittelstück (= „haptophore Gruppe") eine bestimmte Zahl der komplementophilen Gruppen besetzt werden, aber es blieben dann noch eine genügende Menge freier, „unbesetzter" Gruppen, die dann das Phänomen der Reversibilität bedingen würden.

Jedenfalls aber ergibt sich aus unseren Versuchen erstens, daß unter bestimmten Umständen die Bindung des Komplementmittelstückes (= haptophore Gruppe des Komple-

1) Man beachte, daß im Verhältnis zu den übrigen Mengen hier das Endstück aus doppelt so viel Komplement angewendet wurde als dem Versuch XII entspricht!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mentes) an die zuvor mit Ambozeptor beladenen Blutkörperchen die Reversibilität der Ambozeptorbindung nicht beeinträchtigt, eher aber noch begünstigt (Versuch XII); zweitens, daß die mit Ambozeptor und Mittelstück beladenen Blutkörperchen zwar den Ambozeptor, nicht aber das Mittelstück an neu hinzugefügte, frische Blutkörperchen abgeben können.

2. Das Verhalten des Komplementes bei der unspezifischen Adsorption.

Ich gehe jetzt zur weiteren Prüfung des Komplementbindungsmechanismus bei noch einer anderen Art von „Bindung", die zwar nicht zu den spezifischen Immunitätsreaktionen gehört, die aber in der neuesten Zeit als Analogon zu den ersteren hingestellt worden ist, nämlich bei der Adsorption.

Es wurde nämlich von verschiedenen Forschern, besonders solchen, deren Forschungsgebiet die Erscheinungen der physikalischen Chemie einschließt, die Ansicht ausgesprochen und auch durch viele Versuche unterstützt, daß die Immunitätsreaktionen mit den Adsorptionserscheinungen und deren Gesetzen in Parallele zu setzen, bezw. zu identifizieren sind.

Besonders aber waren dabei die Bindungsverhältnisse, die einerseits bei der physikalischen resp. chemischen, jedenfalls aber unspezifischen Adsorption der Hämolysine, Agglutinine und Bakteriolysine durch verschiedene Adsorbentien, organischen wie auch unorganischen Ursprungs, andererseits aber bei den spezifischen Bindungen, wie Hämolyse, Bakteriolyse und Agglutination in Betracht gezogen. Aus der vergleichenden Analyse dieser Bindungsverhältnisse wurde dann auch auf die nahe Beziehung dieser Reaktionen geschlossen. Es verhält sich im allgemeinen so, daß es eine ganze Reihe verschiedenartiger Substanzen gibt, die beim Zusammenbringen mit aktivem, komplementhaltigem Serum dessen Aktivität bei den spezifischen Prozessen, sei es Hämolyse oder Bakteriolyse, aufheben. Es wird also das Komplement nicht nur von sensibilisierten Blutkörperchen, von sensibilisierten Bakterien, bei

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

den Antigen-Antikörperreaktionen verbraucht, sondern von einer ganzen Reihe von Substanzen kolloidaler, organischer, sowie anorganischer Natur.

Landsteiner und v. Eisler[1]), Landsteiner und Stanković[2]) fanden, daß Cholesterin, Kaolin, Protagon, Tristearin komplementbindende Eigenschaften zeigen. Wassermann und Citron[3]) fanden dasselbe für Lecithin, Neutralfette, also ebenfalls für Lipoide. Bang und Forssman[4]) haben dann für die Lipoide des Blutserums und der roten Blutkörperchen die komplementbindenden Eigenschaften festgestellt. Schließlich beschrieb Seligmann[5]) die Komplementabsorption durch chemische Niederschläge indifferenter Natur, wie kolloidale Eisenhydroxydlösung, Mastix + Kochsalz, Gelatine + Schellack etc., und v. Dungern[6]), Edm. Hocke[7]), Wilde[8]) und Hess und Römer[9]) haben die antikomplementäre Wirkung von normalen Organzellen, Netzhautelementen, Bakterienleibern festgestellt.

Alle diese Befunde machten es wahrscheinlich, daß die Bindung des Komplementes, wie sie z. B. bei der spezifischen Hämolyse sich äußert, ebenfalls eine der Adsorption ähnliche, wenn nicht identische Erscheinung ist. Wie wir nun gesehen haben, unterscheidet sich gerade die Komplementbindung bei der Hämolyse von andersartigen, ebenfalls von uns oben beschriebenen Komplementbindungsreaktionen in einem wesentlichen Punkte: es wird hier, bei der spezifischen Hämolyse, das ganze Komplement verbraucht, während bei den anderen,

---

1) Landsteiner und v. Eisler, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, p. 309.

2) Landsteiner und Stanković, ebenda, p. 25.

3) Wassermann und Citron, Zeitschr. f. experimentelle Therapie, Bd. 4, 1907.

4) Bang und Forssman, Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, 1906.

5) Seligmann, Berl. klin. Wochenschr., 1907.

6) v. Dungern, Beiträge zur Immunitätslehre. Münch. med. Wochenschr., 1900.

7) Edm. Hocke, Ueber Komplementbindung durch Organzellen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903.

8) Wilde, Ueber die Beeinflussung der Alexinwirkung durch Adsorption. Arch. f. Hygiene, Bd. 44, 1902.

9) Hess und Römer, Experimentelle Untersuchungen über Antikörper der Netzhautelemente. Arch. f. Augenh., Bd. 54.

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

ebenfalls spezifischen Reaktionen nur das Mittelstück gebunden und verbraucht wird. Wenn aber die Bindung des Komplementes an die sensibilisierten Blutkörperchen mit der unspezifischen Adsorption seitens verschiedenartiger Substanzen, wie Lipoide, Kaolin etc. zu vergleichen ist, so müßte es sich hier ebenso wie bei der spezifischen Hämolyse verhalten.

Es wurden für die vorliegenden Versuche Gehirnsubstanz als Lipoid und Kaolin gebraucht. Wir möchten aber von vornherein bemerken, daß die Versuche mit Gehirnsubstanz nicht ganz eindeutig zu bewerten sind, und zwar aus folgenden Gründen. Die von mir verwendete Gehirnemulsion (von Meerschweinchen) ergab auch in verhältnismäßig großen Dosen nur sehr schwache Komplementabsorption. Da aber anzunehmen ist, daß die persensibilisierten Blutkörperchen etwas weniger (wenn auch nur unbedeutend) Komplement zur Auflösung brauchen als sensibilisierte, so konnte der Vergleich bei sehr kleinen Komplementmengen nicht ganz beweisend sein. Wir führen aber trotzdem, der Vollständigkeit halber, auch diese Versuche an.

Versuch XIV.

Gehirn von Meerschweinchen wird fein verrieben, in 6-fachem Volumen 0,85-proz. ClNa-Lösung aufgenommen, ca. 4 Stunden geschüttelt (Schüttelapparat), dann die groben Partikelchen durch 2—3-fache Gazelage filtriert und die Emulsion nun in verschiedenen Mengen mit verdünntem Komplement bei 37° zusammengebracht.

Hämolytische Eigenschaften zeigte die Emulsion nicht.

A.

	1	1a	2	2a	3	3a
Gehirnemulsion	2,0	2,0	1,0	1,0	0,5	0,5
Komplement ($^1/_{25}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,0	0,0	1,0	1,0	1,5	1,5
1 Stunde bei 37° geschüttelt						
	+ Persens. Blutk.	+ Sensibil. (40-f.) Blutk.	+ Persens. Blutk.	+ Sensibil. Blutk.	+ Persens. Blutk.	+ Sensibil. Blutk.
Resultat:	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B.

	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
Gehirnemulsion	3,0	3,0	2,0	2,0	1,0	1,0	0,5	0,5
Komplement ($^1/_{50}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-pr. ClNa-Lös.	0,0	0,0	1,0	1,0	2,0	2,0	2,5	2,5
1 Stunde bei 37° geschüttelt								
	+ Pers. (0,5)	+ Sens. (0,5)	+ Pers.	+ Sens.	+ Pers.	+ Sens.	+ Pers.	+ Sens.
Resultat:	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.

Kaolinversuch (XV).

Tabelle A.

	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
0,85-proz. ClNa-Lös.	0,15 g	0,15 g	0,1 g	0,1 g	0,05 g	0,05 g	0,03 g	0,03 g
Komplement ($^1/_{10}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Kaolin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
20—30 Minuten geschüttelt, alsdann zentrifugiert und die Abgüsse zu:								
	Pers. Blutk. 0,5	Sens. Blutk. (40-f.)	Pers. Blutk. 0,5	Sens. Blutk. 0,5	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk.	Sens. Blutk
Resultat:	0	0	0	0	etwas gelöst	etwas Häm.	kmpl.	kmpl.

Tabelle B.

	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
Kaolin	0,15	0,15	0,1	0,1	0,05	0,05	0,03	0,03
Komplement ($^1/_{10}$)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
0,85-proz. ClNa-Lös.	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
$^1/_2$ Stunde geschüttelt, dann zentrifugiert und die Abgüsse versetzt mit 0,5								
	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk	Sens. Blutk.
Resultat:	0	0	0	0	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kmpl.

Tabelle C.

	1	1a	2	2a	3	3a
Kaolin	0,2	0,2	0,15	0,15	0,1	0,1
Komplement ($^1/_{10}$)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
$^1/_2$ Stunde geschüttelt, dann zentrifugiert und die Abgüsse zu 0,5; 40-f.						
	Pers. Blutk.	Sensib. Blutk.	Persensib. Blutkörp.	Sensibilis. Blutkörp.	Pers. Blutk.	Sensib. Blutk.
Resultat:	0	0	teilweise Hämolyse	teilweise Hämolyse	kmpl.	kompl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle D.

(Bei saurer Reaktion.)

Die saure Reaktion wurde durch eine bestimmte Quantität (1 ccm) von $^1/_7$-n. prim. Natriumphosphat erzielt und dann nach dem Abzentrifugieren von Kaolin die saure Reaktion wieder durch Zusatz von ebensoviel sekundärem Natriumphosphat aufgehoben, um dadurch die etwa eintretende Hämolyse zu ermöglichen.

	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
Kaolin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
$^1/_7$-n. Na	1,0	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0	0,0	0,9
0,85-pr. ClNa-Lös.	0,4	0,4	1,4	1,4	0,4	0,4	1,4	1,4
Komplement ($^1/_{10}$)	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6

$^1/_2$ Stunde geschüttelt, dann zentrifugiert, die sauren Abgüsse durch Zusatz von je 1 ccm $^1/_7$-n. sekundären Natriumphosphats neutralisiert, die anderen Abgüsse von je 1 ccm alle auf das gleiche Volumen gebracht und nun die Abgüsse versetzt mit 0,5 ccm (40-f.).

	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.	Pers. Blutk.	Sens. Blutk.
Resultat:	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle E.

(Bei alkalischer Reaktion.)

Die alkalische Reaktion wurde durch eine bestimmte Quantität von $^1/_7$-normalem (isoton.) sekundärem Natriumphosphat erzielt und dann nach dem Abzentrifugieren wurde zu den alkalischen Abgüssen etwas vom sauren Phosphat zugesetzt, um dadurch die Hämolyse günstiger zu gestalten.

	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
Kaolin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
$^1/_7$ n. Na_2	1,0	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0	0,0	0,0
0,85 % ClNa	0,4	0,4	1,4	1,4	0,4	0,4	1,4	1,4
Komplem. $^1/_{10}$	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6

$^1/_2$ Stunde (geschüttelt). Zentrifugiert.

Zu den alkalischen Abgüssen (von 1, 1 a, 3, 3 a) je 0,5 ccm $^1/_7$ n. primären Natriumphosphats, zu den Abgüssen (2, 2 a, 4 a, 4) ebensoviel 0,25-proz. ClNa-Lösung.

Alsdann die Abgüsse versetzt mit 0,5 ccm

	Pers. Blutk.	Sensib. Blutk.	Pers. Blutk.	Sensib. Blutk.	Pers. Blutk.	Sensib. Blutk.	Pers. Blutk.	Sensib. Blutk.
Resultat:	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**kmpl.**	**kmpl.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle F.

(Bei erhöhter Konzentration.)

Es wird die komplementhaltende Flüssigkeit in erhöhter, hypertonischer Konzentration (5-proz. ClNa-Lösung) mit Kaolin zusammengebracht, dann nach dem Abzentrifugieren die Abgüsse mit destilliertem Wasser zum Zweck der Verdünnung versetzt etc.

	1	1a	2	2a	3	3a
Kaolin	0,2 g	0,2 g	0,1 g	0,1 g	0,05 g	0,05 g
5-proz. ClNa-Lös.	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Kompl. in 5-proz. ClNa-Lös. ($^1/_{10}$)	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
$^1/_2$ Stunde geschüttelt, vom Kaolin abzentrifugiert.						
	Zum Abguß Aq. dest. 3,0 + Persens. Blutk.	Zum Abguß Aq. dest. 3,0 + Sensibil. Blutk.	Zum Abguß Aq. dest. 3,0 + Persens. Blutk.	Zum Abguß Aq. dest. 3,0 + Sensibil. Blutk.	Zum Abguß Aq. dest. 3,0 + Persens. Blutk.	Zum Abguß Aq. dest. 3,0 + Sensibil. Blutk.
Resultat:	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**

Die Beurteilung dieser Versuche ergibt in der Hauptsache eine auffallende Analogie, die zwischen der Komplementbindung bei der spezifischen Hämolyse einerseits und Adsorption durch Kaolin andererseits existiert. In beiden Fällen, durch Kaolin, wie durch sensibilisierte Blutkörperchen wird das Komplement in beiden seinen Komponenten vollständig verbraucht resp. adsorbiert.

Dieses analoge Verhalten erstreckt sich nicht, wie wir aus den Tabellen D und F gesehen haben, auf den Einfluß der Reaktion resp. Konzentration des Mediums, dabei ist aber noch folgendes in Erwägung zu ziehen. Wir haben in den Versuchen (Tabelle D) eine nur leicht saure Reaktion des Mediums angewandt. Diese Reaktion bewirkt zwar bei der spezifischen Hämolyse vollständiges Ausbleiben der Komplementbindung, aber wenn die Blutkörperchen maximal sensibilisiert sind, so wird doch trotz der sauren Reaktion des Mediums das Verhalten des Komplementes ein anderes: es äußert sich die Affinität des Komplementes zu den hoch sensibilisierten Blutkörperchen in so starkem Maße, daß, wenn auch nicht das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ganze Komplement, so doch das Mittelstück gebunden wird[1]). Wenn man also die Verhältnisse der Komplementbindung einerseits bei der spezifischen Hämolyse, andererseits durch Kaolin bei gleich saurer Reaktion des Mediums[2]) betrachtet, so ergibt sich, daß eine Analogie, wenn auch nicht vollständige, auch hier sich geltend macht, wenn man hochsensibilisierte Blutkörperchen und Kaolin gegenüberstellt. Es bleibt aber natürlich noch ein qualitativer Unterschied bestehen: hier, bei den hochsensibilisierten Blutkörperchen bindet sich bei saurer Reaktion des Mediums nur das Mittelstück des Komplementes, das Kaolin absorbiert, unter gleichen Bedingungen das ganze Komplement. Ebenso verhält es sich bei der erhöhten Salzkonzentration (F) des Mediums: es wird das Komplement, wenigstens nicht das ganze, von sensibilisierten Blutkörperchen dabei nicht gebunden, dagegen wird es von Kaolin absorbiert.

Was die alkalische Reaktion betrifft, so wird das Komplement in beiden Fällen von Kaolin und sensibilisierten Blutkörperchen gebunden resp. absorbiert.

Schlußbetrachtungen.

Wenn wir nun zunächst von dem Einflusse des Mediums, dem bei der spezifischen Hämolyse eine große Rolle zukommt, absehen, so ergibt sich im wesentlichen folgendes. Während in einer Reihe von Komplementbindungsreaktionen, wie Präzipitation, Wassermannsche Luesreaktion, Tuberkulin-Antituberkulinreaktion nur das Mittelstüek des Komplementes verändert, verbraucht wird, läßt sich bei der Bindung des Komplementes durch sensibilisierte Blutkörperchen, andererseits aber auch durch Kaolin ein qualitativer Unterschied feststellen, indem hier der ganze Komplementkomplex, Mittel- und Endstück, gebunden bezw. verbraucht werden.

---

1) Michaelis und Skwirsky, l. c.

2) Eine stärker saure Reaktion bei den Kaolinversuchen wäre insofern ungünstig, als dann die notwendige Umkehrung der Reaktion erschwert wäre und außerdem ein schädlicher, zerstörender Einfluß auf die Blutkörperchen sich im hohen Maße geltend machen würde.

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Wenn nun weiter berücksichtigt werden muß, daß sowohl bei den zuerst erwähnten Komplementbindungsreaktionen, wie bei der spezifischen Hämolyse es sich in der Hauptsache um Antigen-Antikörperreaktionen handelt — und dieses das gemeinsame Moment für alle diese Reaktionen abgibt — so wird das abweichende Verhalten des Komplementes um so auffallender.

Es besteht aber andererseits zwischen der Hämolyse und den sonstigen Antigen-Antikörperreaktionen ein wichtiger Unterschied, dem bei der Beurteilung dieser Verhältnisse vielleicht nicht die letzte Rolle zukommt.

Es sind uns zwar die intimen Beziehungen zwischen der sichtbaren Wirkung des Komplementes auf den Vorgang der Cytolyse, der sichtbaren Auflösung der Blutkörperchen oder Bakterien und seiner Bindung bei den Antigen-Antikörperreaktionen verborgen. Sicher ist aber, daß es sich bei der Cytolyse um zwei **besondere** Reaktionen handelt. Erstens um die Bindung von Antigen (Blutkörperchen resp. Stromata der Blutkörperchen, Bakterienleiber) und Antikörper (Ambozeptor resp. Stromataantikörper) und diese Reaktion ist den anderen Antigen-Antikörperreaktionen, wo als Antigene Eiweiße etc. fungieren, an die Seite zu stellen. Zweitens aber handelt es sich hier noch um einen anderen Vorgang, nähmlich um die Auflösung der Zellen, Blutkörpercheu oder Bakterien — und dies ist das neu hinzukommende Moment, im Vergleich zu den allgemeinen, nicht cellulären Antigen-Antikörperreaktionen. Es ging zwar Gengou[1]) bei seinen Untersuchungen, die zur Entdeckung der Komplementablenkungsreaktionen führten, von dem Leitgedanken aus: „De même que les sensibilatrices des sérums antimicrobiens et hémolytiques fixent l'alexine des sérums normaux frais sur les microbes ou les globulas qui ont été injectés aux animaux, de même les sensibilatrices des sérums non anticellulaires fixent cette alexine sur les substances qui ont amené leur fabrication.“ Wir konnten aber feststellen, daß dies nur bis zu einem gewissen Grade gelten kann: es wird bei allen Antigen-Antikörperreaktionen im

1) Gengou, Annales de l'Institut Pasteur, T. 16, 1902.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sinne Gengous, bei der also das Komplement sich beteiligen kann — bei cellulären wie nichtcellulären — das Mittelstück des Komplementes gebunden. Aber nun, nach der Bindung des Mittelstücks, hört die Analogie auf: es wird von den Blutkörperchen dann auch das Endstück verbraucht und damit tritt gleichzeitig die oben erwähnte, **zweite** Reaktion auf: die Auflösung der Blutkörperchen.

Es soll nun aus diesen Feststellungen folgender Schluß gezogen werden. Die Komplementbindung bei allen Arten von Antigen-Antikörperreaktion — bei denen überhaupt eine solche in Betracht kommt — äußert sich ausschließlich in der Fixation des Mittelstücks, wobei das Endstück vollständig frei, unverbraucht bleibt. Bei der Reaktion Blutkörperchen + Immunserum bindet sich, sofern es den typischen Antigen-Antikörperreaktionen entspricht, ebenfalls zunächst das Mittelstück des Komplementes. Diese spezifische Affinität des Mittelstücks zu dem Komplex Blutkörperchen + Antikörper (Ambozeptor) äußert sich unter anderem in dem von uns schon festgestellten Umstande, daß, wenn bei ungünstiger, saurer Reaktion des Mediums keine Hämolyse eintritt, es trotzdem zur Bindung des Mittelstücks **allein** kommt bei Anwesenheit von viel Ambozeptor. Nachdem das Mittelstück sich an die sensibilisierten Blutkörperchen bindet, kommt es bekanntlich ebensowenig zur Auflösung der Blutkörperchen, wie es nach der Bindung des Ambozeptors geschieht. Erst die Intervention des Endstückes steht in direktem Zusammenhange mit diesem Vorgang der Auflösung.

Welche Beziehungen zwischen der Bindung des Mittelstückes an sensibilisierte Blutkörperchen und der erst nach diesem Vorgang ermöglichten Bindung und Wirkung des Endstückes bestehen, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden. Jedenfalls sind die beiden Komponenten des Komplementes an, wenigstens bis zu einem gewissen Grade, **gesonderten Reaktionen** beteiligt.

Die vorliegenden Untersuchungen gestatten auch in einem gewissen Sinne Stellung zu nehmen zu der Frage: Wird das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Endstück — wie Brand (l. c.) in weiterer Uebertragung der Ehrlichschen Auffassung annimmt — an eine haptophore Gruppe des Mittelstückes gebunden oder aber bewirkt die Bindung des Komplement-„Mittelstückes" eine „Umstimmung" des ganzen Blutkörperchenkomplexes derart, daß dieses nunmehr seine Affinität zum Endstück äußert ohne direkte Vermittelung einer haptophoren Gruppe des Mittelstückes.

Daß zwischen Mittel- und Endstück an sich, bei der Beteiligung an den spezifischen Reaktionen, keine hohe Bindungsaffinität besteht, beweisen vor allem die „Komplementablenkungsreaktionen". Es wird hier das Mittelstück quantitativ vom Endstück getrennt.

Daß nun das Mittelstück gerade durch Bindung an die sensibilisierten Blutkörperchen seine Avidität zu dem Endstück erhöhen sollte, ist eine recht gezwungene Annahme.

Vielmehr ist es plausibler, anzunehmen, daß das Protoplasma der Blutkörperchen selbst durch Beladung mit dem Mittelstück die Aviditätserhöhung zum Endstück erfährt.

Ohne die Annahme einer „Aviditätserhöhung" irgendeiner haptophoren Gruppe infolge der Bindung des Komplementmittelstückes kommen wir nicht aus, wenn wir überhaupt im Ehrlichschen Bilde bleiben wollen.

Daß diese haptophore Gruppe gerade dem Mittelstück angehöre, wie Brand und Hans Sachs es wollen, ist wenig wahrscheinlich.

Wenn wir nun die weitere Frage aufstellen: worauf beruht die Bindung des Endstückes an die persensibilisierten Blutkörperchen, so haben wir es zunächst nicht mehr nötig, einen spezifischen Bindungsprozeß hier anzunehmen. Von der Natur der schon erwähnten „Umstimmung" der Blutkörperchen kann zuerst noch nicht mit Sicherheit geurteilt werden, aber die „Kräfte", denen bei der Bindung des Endstückes eine vielleicht ausschlaggebende Rolle zukommt, können schon näher erkannt, bezeichnet werden.

Das Verhalten des Komplementes bei der Adsorption durch Kaolin macht es in höchstem Maße wahrscheinlich, daß es sich hier, namentlich bei der Bindung des End-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stückes, um eine adsorptionsähnliche Erscheinung handelt.

Aus den Untersuchungen von L. Michaelis und P. Rona[1]), von L. Michaelis und Ehrenreich[2]), sowie von L. Michaelis[3]) ergibt sich, daß verschiedene Fermente durch verschiedenartige Adsorbentien, wie Kohle, Kaolin etc. quantitativ ihren Lösungen entzogen werden können. Als Vorbedingung dafür fanden die genannten Autoren das elektrochemische Verhalten, die elektrischen Ladungen. Es muß das Vorzeichen des Absorptionsstoffes der Ladung der absorbierenden Substanz entgegengesetzt sein.

Das in unseren Versuchen verwendete Kaolin besitzt ein elektrochemisches Adsorptionsvermögen, das sich nur auf Stoffe mit bestimmter elektrischer Ladung, nämlich nur auf basische Stoffe bezieht. Es kommen also bei der Adsorption durch Kaolin einzig elektrochemische Kräfte in Betracht, im Gegensatz zu den mechanischen Adsorptionen.

Es spricht nichts mehr dagegen, daß — wenigstens die Bindung des Endstückes durch persensibilisierte Blutkörperchen — der Bindung durch Kaolin ganz analog ist. Auch hier würde dann den elektrochemischen Kräften die ausschlaggebende, die Hauptrolle zukommen.

Wir wollen aber einem Mißverständnis vorbeugen. Es soll nicht etwa das Wesen der spezifischen Bindung durch eine einfache elektrochemische Adsorption erklärt werden, sondern im Gegenteil, es soll zunächst die Bindung des Endstückes als ein nichtspezifischer Prozeß hingestellt werden.

Bei den spezifischen Prozessen, bei der Beziehung des Komplementes zum Immunkörper und zu den vom Immunkörper beeinflußten, sensibilisierten Substanzen muß zu den manchmal auch vorhandenen elektrischen Gegensatzlichkeiten der beiden Stoffe noch eine besondere, chemische Affinität hinzukommen.

---

1) L. Michaelis und P. Rona, Biochem. Zeitschr., Bd. 4, 1907.
2) L. Michaelis und Ehrenreich, ebenda, Bd. 7, 1908.
3) L. Michaelis, ebenda, Bd. 7, 1908, p. 488.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es würde dann das Wesen der spezifischen Affinitäten zwar in der Hauptsache auf chemische Affinitäten zurückzuführen sein [1]) — im gewissen bestimmten Gegensatz zu der auf elektrochemischen Kräften allein beruhenden Bindung des Endstückes —, den elektrochemischen Kräften aber eine besondere, gewissermaßen „umstimmende", auslösende Rolle bei den spezifischen Immunitätsprozessen zukommen.

Zusammenfassung.

Das Verschwinden des Komplements unter verschiedenen Bedingungen beruht auf verschiedenen Ursachen:

1) Bei der gewöhnlichen Hitze-Inaktivierung verschwindet das ganze Komplement [2]).

2) Bei der Adsorption des Komplements durch Suspensionen (Kaolin) verschwindet das ganze Komplement.

3) Bei den spezifischen „Komplementablenkungen", sowohl bei der Präzipitinreaktion, wie bei der Luesreaktion, wie bei der Tuberkulin-Antituberkulinreaktion, wie bei den eigenablenkenden Seren mancher tuberkulöser Individuen, verschwindet nur das Mittelstück, während das Endstück quantitativ frei bleibt.

4) Bei der Hämolyse verschwindet bei neutraler, sowie alkalischer Reaktion das ganze Komplement, bei saurer Reaktion, wo die sichtbare Hämolyse gehemmt wird, verschwindet nur das Mittelstück durch Bindung an die Blutkörperchen.

5) Hiermit ist ein prinzipieller Unterschied der „spezifischen Komplementbindung" und der gewöhnlichen „Adsorption des Komplements" festgestellt.

---

1) L. Michaelis, „Physikalische Chemie der Kolloide" im „Handbuch der physikalischen Chemie" von Korany, p. 452—453.

2) Komplementmittelstück, welches nicht frei, sondern an sensibilisierte Blutkörperchen gebunden ist, wird dagegen bei 55° nicht zerstört.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus der k. k. dermatologischen Klinik (Prof. K. Kreibich in Prag).]

Zur Technik der Seroreaktion bei Syphilis.

Von M. U. Dr. **Hugo Hecht,**
klin. Assistent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Februar 1910.)

Nach $1^1/_2$-jähriger Betätigung auf dem Gebiete der Serodiagnostik, während welcher über 1400 Sera zur Untersuchung gelangten, möge es gestattet sein, über einige praktisch-technische Errungenschaften zu berichten; untersucht wurden:

1160 Sera nach der Wassermannschen Methode,
817 Sera nach der Hechtschen Methode,
100 Sera nach Tschernogubow[1]),

außerdem wurden in vereinzelten Versuchsreihen die Bauersche und Sternsche Methode angewandt.

Als Ambozeptor gelangte ein Kaninchenimmunserum zur Verwendung, das Ende September 1908 in größerer Quantität gewonnen und seitdem in einem „Frigo"-Apparate in vollkommener Brauchbarkeit aufgehoben wurde.

Das Antigen wurde nur in Form alkoholischer Extrakte benutzt. Als verwendbar zeigte sich Meerschweinchenherz, Rinderherz, Menschenherz (von einem luetischen Foetus). Es werden gewöhnlich zwei Dosen [nach Müller[2])] gebraucht: a) die Hälfte derjenigen Menge, die mit normalem Serum noch keine Hemmung gibt, b) eine etwas stärkere Dosis, also etwa drei Viertel dieser Menge; a wirkt streng „spezifisch", d. h. nur dann erfolgt Hemmung, wenn es sich um ein Serum handelt, das nach der Originalmethode sicher hemmt; b gibt oft noch positiven Ausschlag, wenn sich a als zu schwach erweist (Sklerosen, Lues latens, behandelte Fälle etc.), ist aber mit Vorsicht zu beurteilen.

---

1) Ueber unsere Erfahrungen mit dieser Methode hat H. Guth in der Deutschen med. Wochenschr., 1909, No. 52 berichtet.

2) Müller, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 40.

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Die von vielen konstatierte Ueberlegenheit des wässerigen Extraktes gegenüber dem alkoholischen glaube ich auf die hemmende Wirkung des 96-proz. Alkohols zurückführen zu können. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man die gerade noch allein hemmende Dosis eines alkoholischen Extraktes bestimmt, dann diese Menge in ein Röhrchen abmißt, den Alkohol abdunsten läßt und nun das hämolytische System zusetzt: die Hemmung bleibt diesmal aus!

Versuch: Alkoholischer Extrakt aus Meerschweinchenherzen wird in aufsteigenden Mengen in Röhrchen abgemessen; dann läßt man den Alkohol abdunsten. Nun wird eine zweite Reihe mit denselben Mengen alkoholischen Extraktes aufgestellt, zu beiden 0,1 ccm Meerschweinchenserum hinzugefügt, mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt und eine Stunde bei 37° gehalten; dann kommt Ambozeptor und Hammelblut in solchen Mengen hinzu, daß ohne Anwesenheit des Extraktes in 1½ Stunden Lösung erfolgt. Nach 2-stündigem Aufenthalte im Thermostaten wird die Versuchsreihe aufs Eis gestellt und nach 12 Stunden abgelesen.

Mengen in ccm	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4
Trockenextrakt	Lösg.	Lösg.	Lösung	Lösg.	Lösg.	Lösg.	Spur	schwache Hemmung
Alkohol. Extrakt	Lösg.	Spur	schwache Hemmung	+	++	++	+++	+++

Noch stärkere Dosen alkoholischen oder Trockenextraktes wirken dann nicht mehr hemmend, ähnlich wie es bei dem künstlichen Gemisch von Sachs-Rondoni beobachtet wurde.

Man kann also, wenn die hemmende Wirkung des Alkohols ausgeschaltet ist, viel mehr der wirksamen Extraktivstoffe auf Komplementantikörper einwirken lassen; daher auch die größere Zahl von Hemmungen mit wässerigem Extrakt. Es ist deshalb als eine gute Idee zu betrachten, wenn Lesser[3]) den Aetherextrakt eines Organs abdampft und den Rest mit physiologischer Kochsalzlösung aufnimmt; natürlich erhält man auf diese Weise keinen „wässerigen Extrakt", wie Lesser meint, sondern eine wässerige Aufschwemmung der mit Aether-Alkohol extrahierten Stoffe. Man kann die ganze Prozedur noch viel einfacher gestalten:

3) Lesser, Berliner klin. Wochenschr., 1909, No. 21.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tags vor einem Versuch mißt man in die nötige Anzahl von Röhrchen die ausgeprobte Menge des alkoholischen Extraktes ab und stellt sie in den Brutofen. Am nächsten Tage ist der Alkohol verdunstet und der Boden der Röhrchen mit einem feinen staubförmigen Ueberzug bedeckt, den eingetrockneten Extraktstivstoffen. Nach Zusatz der entsprechenden Mengen von physiologischer Kochsalzlösung kann die Anstellung der Seroreaktion sofort vorgenommen werden. Uebrigens hält sich das Antigen in derart getrocknetem Zustand sehr lange unverändert.

Da das Komplement sehr labil ist, so wurden schon lange Mittel gesucht, das Unbrauchbarwerden hintanzuhalten. Die Aufbewahrung im „Frigo" hat sich nicht bewährt [M. Stern[4])], die Methode von Noguchi[5]), das komplementhaltige Serum auf dickem Filtrierpapier im kühlen Luftstrome rasch einzutrocknen und so zu konservieren, ist nicht immer verläßlich, wie ja der Autor selbst angibt. Ich versuchte nun auf anderem Wege die Konservierung des Komplementes. Kleine Mengen von frischem Meerschweinchenserum wurden in flachen Schälchen rasch eingetrocknet; der Rückstand enthielt in Pulverform die festen Bestandteile des Serums. Löste man vor dem Gebrauche dieses Pulver mit der entsprechenden Menge destillierten Wassers auf, so konnte man noch nach Wochen einen zwar nicht unverminderten, aber doch gebrauchsfähigen Komplementgehalt feststellen. Aber die mühevolle Darstellungsweise, die einen komplizierten Lufttrocknungsapparat nötig erscheinen läßt, ließ mich von dieser Methode abkommen, die ja unleugbar sehr praktisch sein würde, wenn das komplementhaltige Serum fabriksmäßig in derart handlicher und haltbarer Form hergestellt würde.

Nun hat Friedberger[6]) darauf aufmerksam gemacht, daß sich in stark konzentrierten Salzlösungen das Komplement recht lange hält, und damit experimentell bestätigt, was bis dahin nur hypothetisch angenommen wurde. Die Wirkungsweise des Komplementes ist nämlich vorwiegend chemisch-physikalischer Natur; möglicherweise beruht das Unwirksamwerden eines

4) M. Stern, Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 32.
5) Noguchi, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 10.
6) Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, p. 441.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serums durch Erhitzung auf 55° darauf, daß die Oberflächenspannung des Serums erniedrigt wird (Much). Aehnlich läßt sich das Schwinden des Komplementes durch Stehenlassen erklären. Wird nun das komplementhaltige Serum durch Salzzusatz auf eine hohe Konzentration gebracht, dann wird auch die Oberflächenspannung sehr erhöht und ein Komplementschwund tritt nicht ein. Verdünnt man dieses stark konzentrierte Serum so weit, bis der physiologische Salzgehalt erreicht ist, dann ist in kurzer Zeit das Komplement verschwunden.

Dieses rein physikalische Verhalten ist für die Zwecke der Serodiagnose recht gut in die Praxis umzusetzen. Ich bediene mich seit nunmehr $^3/_4$ Jahren folgenden Verfahrens zur Konservierung des Komplementes: Auf je 10 ccm frisches Meerschweinchenserum kommen 0,85 g Natrium chloratum pulverisatum. Nach Auflösung dieser Salzmenge bewahrt man das Serum im Eisschrank auf. Vor dem Gebrauche setzt man auf je 10 ccm Serum 90 ccm destilliertes Wasser hinzu und hat dann ein zur Reaktion verwendbares Komplement in der üblichen 10-fachen Verdünnung. Auch diese Art konserviertes Komplement konnte ich noch 2 Monate nach der Gewinnung verwenden, wie folgender Versuch lehrt:

20. III. 1909. 0,1 ccm frisches Meerschweinchenserum + 1 ccm einer $^1/_{2000}$ Ambozeptorlösung + 1 ccm (5-proz.) Hammelblutkörperchen geben gerade noch komplette Lösung. Nachher wird das Serum in der üblichen Weise konserviert.

31. III. 1909. Derselbe Versuch mit dem konservierten Serum = komplette Lösung.

12. IV. 1909. Derselbe Versuch = komplette Lösung.
20. IV. 1909. „ „ = „ „
20. V. 1909. „ „ = „ „

Nach dem gleichen Vorgange gelingt es auch, im Menschenserum das Komplement zu erhalten, wovon später noch die Rede sein wird.

An einer Klinik ist zwar ein Mangel an Kontrollserum fast ausgeschlossen, doch ist es gut, wenn man ausgeprobte Sera zum Zwecke der Kontrolle in haltbarem Zustande vorrätig hat. Dies kann leicht durch Trocknung bewerkstelligt werden. Kleine Mengen (z. B. 0,5 ccm) des betreffenden Serums werden in einem Schälchen getrocknet. Zum Ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

brauche versetzt man die Trockensubstanz mit derselben Menge physiologischer Kochsalzlösung und fügt nach vollständiger Lösung die gleiche Menge destillierten Wassers hinzu. Dieser Vorgang ist deshalb zu empfehlen, weil bei Zusatz von destilliertem Wasser zu getrocknetem Serum gewisse Stoffe (Globuline?) ungelöst bleiben und als trübe Flocken in der Flüssigkeit umherschwimmen, was bei dem oben geschilderten Vorgang ausbleibt. Man hat also das Serum in 2-facher Verdünnung, und die Seroreaktion zeitigt dieselben Resultate wie im frischen Zustande.

Seit meiner ersten Mitteilung über „eine Vereinfachung der Komplementbindungsreaktion bei Syphilis" sind mehrere Nachuntersuchungen vorgenommen und veröffentlicht worden, die einem Urteil über den praktischen Wert dieser Methode zugrunde gelegt werden können.

Daß M. Stern[7]) nicht zu denselben günstigen Ergebnissen gelangte wie ich, habe ich schon in einer früheren Arbeit auf ein Mißverstehen und Nichtbefolgen der streng einzuhaltenden Vorschriften zurückgeführt.

Meirowsky[8]) hat bloß wenig praktische Erfahrung und bemängelt hauptsächlich die Verwendung normalen Serums als hämolytische Quelle und die Schwankungen im normalen Ambozeptorgehalt der menschlichen Sera; doch ergibt die Praxis die Haltlosigkeit dieser Einwände. Isabolinsky[9]) verwirft alle Methoden, die mit aktivem Serum arbeiten, da es zu „unspezifischen" Hemmungen kommen könnte; derselben Ansicht ist auch Boas[10]), Halberstädter u. a. Hochnes[11]) rein theoretische Erörterungen sind nicht ernst zu nehmen, da eine Beurteilung neuer Methoden nur praktisch, aber nicht am Schreibtisch vorgenommen werden muß.

Es erscheint überflüssig, an dieser Stelle über die Frage von der Anwendung aktiver Sera ausführlich zu sprechen, da Tschernogubow[12]) Für und Wieder bezüglich dieses Punktes zusammengefaßt hat. Nur so viel sei gesagt, daß man bloß die rein praktischen Erfahrungen gelten lassen darf, und die meinigen sind derart, daß von meinen ungefähr 160 normalen Seren keines in aktivem Zustande hemmte, wenn es nicht auch zugleich nach der Originalmethode positive Resultate gab. Die Beobachtung Sterns,

---

7) Stern, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie, Bd. 1, Heft 3.

8) Meirowsky, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 4 u. 28.

9) Isabolinsky, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie, Bd. 3, Heft 2.

10) Boas, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 9.

11) Hoehne, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 8.

12) Tschernogubow, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 40.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

daß bei konsumierenden Erkrankungen das aktive Serum manchmal positive Reaktion ergab, das inaktivierte aber nicht, fordert zur Vorsicht auf; bei diesen Seren beugt ein Ueberschuß an Hämolysinen, eventuell durch Hinzufügen von genügenden Mengen normalen Serums erzeugt, einer solchen unspezifischen Hemmung vor. Ein solcher Ausnahmefall, der aber bei richtigem Vorgehen belanglos ist, darf nicht als Grund für die Verwerfung eines sonst brauchbaren Verfahrens benützt werden.

Dagegen liegen mehrere Arbeiten vor, die die klinische Verwendbarkeit meiner Methode neben gleichzeitiger Einfachheit hervorheben. König[13]) hat, wie ich einer brieflichen Mitteilung entnehme, bis jetzt über 400 Sera — stets unter genauer Kontrolle mit der Originalmethode — untersucht und kann nur das bestätigen, was er im Titel seiner Arbeit sagt. An anderer Stelle[17]) führt er an, daß er nie irreführende Resultate (110 normale Sera) bei erheblicher Vereinfachung und größerer Empfindlichkeit erhalten habe. G. Stankuleanu und Liebreich[14]) bestätigen die Verwendbarkeit für die Serumdiagnose bei Augenerkrankungen. Scholz[15]) bezeichnet das Verfahren als „recht einfach und zuverlässig". Bruckner und Galasescu[16]) haben 135 Sera untersucht und besonders bei latenter Lues, tertiären Erscheinungen und parasyphilitischen Erkrankungen eine Ueberlegenheit des vereinfachten Verfahrens konstatieren können. Werther[17]) berichtet über ca. 500 mit der Wassermannschen und zum Teil auch Sternschen Technik kontrollierte Fälle und findet die in Frage stehende Modifikation besser, weil sie weniger inkomplette Hemmungen (d. h. zweifelhafte Reaktionen) und weniger Versager (d. h. negative Ausschläge bei vorhandener Syphilis) gibt als oben genannte Methoden. Sabrazès und K. Eckenstein[18]) finden an 500 Seren die Methode brauchbar, ebenso A. Galarie[19]). Schließlich sei noch erwähnt, daß Jianu[20]) seine Untersuchungen über die spezifischen Antikörper bei Echinococcuscysten nach derselben Technik durchführte.

Die praktische Brauchbarkeit ist die Feuerprobe, der eine jede Neuerung sorgsam unterzogen werden muß, ehe sie der allgemeinen Benutzung übergeben und empfohlen werden kann.

---

13) König, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 32; Deutsche med. Wochenschr., 1910, No. 11.

14) G. Stankuleanu und Liebreich, Revista stiintzelor med., Okt. 1909.

15) Scholz, Naturforscherversammlung in Salzburg, 1909.

16) Bruckner und Galasescu, C. R. Soc. de Biol., 1909, No. 2.

17) Werther, Monatshefte für prakt. Dermat., Bd. 50, Heft 4, und Gesellschaft für Natur- und Heilkunde zu Dresden, 6. Nov. 1909. Ref. in Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 3.

18) Sabrazès und Eckenstein, Lancet, 22. Januar 1910.

19) A. Galarie, Arch. f. Dermat. und Syphilis, Bd. 100, Heft 1—3.

20) Jianu, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 42.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

An fast 2000 sorgfältig mit der Originalmethode verglichenen Untersuchungen ist die praktische Brauchbarkeit meiner Methodik bei gleichzeitiger Vereinfachung des Verfahrens und Verbesserung der Empfindlichkeit bestätigt worden. Man kann sie deshalb ruhig als Ersatz für die komplizierte Originalmethode vorschlagen.

Um Mißverständnissen bezüglich der Technik meiner Methode vorzubeugen, seien ganz kurz die Momente hervorgehoben, von denen wesentlich der Ausfall der Untersuchungen abhängt; durch die Erfahrung hat sich ein gewisses Optimum der Bedingungen ergeben, in dessen Einhalten die Garantie für sichere Resultate gelegen ist.

1) Das Patientenblut wird möglichst vormittags abgenommen; nach kurzer Zeit löst man den Blutkuchen von der Wand des Röhrchens ab und stellt es in den Eiskasten; bis Nachmittag hat sich das Serum klar abgesetzt, so daß meistens das Zentrifugieren entfallen kann. Stark hämolytisches Serum ist ungünstig. Kann das Serum nicht am selben Tag verarbeitet werden, dann läßt man es im Zusammenhange mit dem Blutkuchen. Eventuell Konservierung mit Kochsalz.

2) Hammelblut (2-proz.): Man mißt 1 ccm defibrinierten Hammelblutes ab, wäscht mit physiologischer Kochsalzlösung und füllt dann bis 50 ccm auf.

3) Antigen: 1 g Meerschweinchenherz oder 5 g Rinderherz auf 50 ccm Alkohol (96-proz.) werden gut mit reinem Sand verrieben, 2 Stunden bei 60° gehalten (öfters schütteln!) und nach dem Erkalten filtriert. 1 ccm der 3-proz. Verdünnung (NaCl) bildet die Versuchsdosis.

4) Korrektur: 20 Minuten ungefähr, nachdem man die Versuchsreihe in den Thermostaten gebracht hat, schaut man nach, ob die Kontrollen (No. 1) gelöst haben. Bei teilweiser Lösung gibt man von demselben Serum noch 0,05—0,1 ccm in alle (4) Röhrchen. Ist keine Spur von Lösung zu sehen, dann kommen in alle Röhrchen des betreffenden Serums 0,05—0,10 ccm normalen Serums; in letzterem Falle noch 1 Stunde im Thermostaten lassen.

5) Meistens stellen wir jetzt für jedes Serum bloß zwei Röhrchen auf:
No. 1: 0,1—0,2 Serum + 1 ccm NaCl + 1 Hammelblut,
No. 2: 0,2 Serum + 1 Antigen; nach 1 Stunde 1 Hammelblut.

Ist eine Korrektur mit demselben Serum nötig, dann ersparen wir das Hinzufügen bei No. 2 und damit 20 Minuten an Zeit. Bei älteren Seren nehmen wir gleich 0,2—0,3 ccm als Anfangsmenge.

Seit März 1909 wurden mit dieser Technik über 500 Sera untersucht, die meisten außerdem nach der Wassermann-

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

schen Methode. Nachstehend eine Gegenüberstellung zusammen mit den schon anderweitig veröffentlichten.

	Wassermann, Hecht +	Wassermann, Hecht —	Wassermann + Hecht —	Wassermann — Hecht +	Summe
Lues I	22	12	—	5	37
„ II	175	21	—	17	213
„ III	18	8	1	1	28
„ latens	33	27	—	16	76
„ heredit.	3	1	—	—	4
Diagnostisches	49	73	—	15	137
Kontrollfälle	1	141	—	—	142
					637

Zusammenfassung.

1) Als Konservierungsverfahren kann empfohlen werden:
   a) für den Ambozeptor der „Frigo"-Apparat;
   b) für das Komplement des Meerschweinchen- und Menschenserums Kochsalzzusatz nach Friedberger, eventuell Trocknung;
   c) für luetische und normale Kontrollsera Trocknung.

2) Alkoholischer Extrakt aus Meerschweinchen- oder Rinderherzen ist brauchbar, am besten nach Abdunsten des Alkohols.

3) Aktive Sera können zur Komplementbindungsreaktion nach den hierfür ausgearbeiteten Methoden (Tschernogubow, Hecht, Stern) benutzt werden, denn die Gefahr der sogenannten „unspezifischen" Hemmung ist sehr selten und kann praktisch leicht vermieden werden.

4) Die von mir angegebene Vereinfachung der Komplementbindungsreaktion hat sich in zahlreichen Nachuntersuchungen als ein klinisch brauchbarer und empfindlicherer Ersatz für das Originalverfahren bewährt.

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorstand: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann).]

Zur Komplementfrage in der Serumanaphylaxie.

Von Dr. **J. G. Sleeswijk.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. März 1910.)

In einer früheren Arbeit aus dem Bordetschen Institut in Brüssel (diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 2) habe ich zuerst darauf hingewiesen, daß bei der anaphylaktischen Reaktion ein spezifischer Komplementschwund in vivo konstant nachweisbar ist. Ich hatte damals freilich nur qualitative Versuche angestellt, aber der Vergleich des Komplementgehaltes der betreffenden Meerschweinchensera vor und nach der Reinjektion gab derart unzweideutige Unterschiede (im Gegensatz zu den Kontrollen), daß damit die prinzipielle Tatsache für mich endgültig entschieden war.

Ich möchte nun gleich bemerken, daß — bei historischer Betrachtung dieser Frage — der von Fleischmann und Michaelis schon früher (Mediz. Klinik, 1906) experimentell in vivo erzeugte Komplementschwund mit dem von mir gezeigten nicht zu verwechseln ist. Die Versuchsbedingungen dieser Autoren waren ganz andere. Sie arbeiteten mit Kaninchen, welche mehrere Monate hindurch mit größeren Dosen artfremden Serums vorbehandelt waren und ein sehr starkes Präzipitin lieferten, das in geeigneten Verhältnissen mit der präzipitablen Substanz auch in vitro eine starke Komplementbindung gab. Nur ganz nebenbei bemerkten die genannten Autoren in ihrer Arbeit, daß die Versuchstiere bei der Reinjektion eine „eigentümliche Ueberempfindlichkeit" zeigten. Bei dem rein anaphylaktischen Komplementschwund aber haben wir es mit Tieren zu tun, welche nur einmal mit minimalen Serumdosen (0,01 ccm) vorbehandelt sind und deren

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Serum mit dem Antigen in vitro weder präzipitierend noch komplementbindend wirkt. Der Parallelismus im Falle von Fleischmann und Michaelis ist hier also in eine Inkongruenz umgewandelt. Auf diese Inkongruenz des Komplementschwundes in vivo und in vitro bei der Serumanaphylaxie, welche L. Michaelis in der Sitzung der Berliner Physiologischen Gesellschaft vom 21. Januar 1910 scheinbar als ein Novum hervorheben wollte, habe ich schon vor Jahresfrist in meiner oben zitierten Arbeit hingewiesen. Ich komme übrigens auf diese Frage unten noch ausführlicher zurück.

Friedberger und Hartoch haben dann später (diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 6) dieses Thema in Angriff genommen und sehr gründlich bearbeitet. Diese beiden Autoren haben in ihrem Artikel die Richtigkeit meiner Angaben angefochten, indem sie schrieben: „Wir wollen hier gleich vorwegnehmen, daß unsere Resultate mit denen von Sleeswijk nicht übereinstimmen.“ Das Umgekehrte ist aber richtig. Ich schrieb doch (1. Mai 1909): „Als Resultat des anaphylaktischen Reaktionsprozesses zeigt sich im Serum intoxizierter Tiere Alexinschwund“, während Friedberger und Hartoch der Meinung waren (27. Oktober 1909): „Beim anaphylaktischen Meerschweinchen ist als Folge der zweiten Injektion während der Anaphylaxie konstant eine Komplementverarmung im Serum nachzuweisen.“ Friedberger und Hartoch kamen also in ihrer Nachprüfung und Erweiterung meiner Angaben grundsätzlich zu dem gleichen Resultat [1]). Aber worin lag nun der Unterschied? Ich hatte behauptet, daß während ± 5 Minuten nach der Reinjektion das lösende Vermögen des Meerschweinchenserums noch unverändert geblieben ist, der maximale Komplementverlust erst allmählich, nach einer halben Stunde, eintritt; Friedberger und Hartoch beobachteten die Komplementverarmung direkt im Anschluß an die Re-

1) Es scheint nicht überflüssig zu sein, daß ich hier meine Prioritätsansprüche in dieser Frage geltend mache, denn Wolff-Eisner erwähnt in seinem Buche „Klinische Immunitätslehre und Serodiagnostik“ nur Friedberger und Hartoch, obwohl ich schon ein halbes Jahr früher den anaphylaktischen Komplementschwund nachgewiesen habe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

injektion. Sie führen diesen Unterschied darauf zurück, daß sie genaue quantitative Komplementtitrationen vorgenommen haben; sie schließen aber „Differenzen in der angewandten Anaphylaxietechnik“ nicht aus.

Beim Durchlesen der Arbeit von Friedberger und Hartoch war es mir schon aufgefallen, daß sie bei ihren Versuchstieren die Reinjektion stets intravenös vorgenommen haben, während meine Angaben sich auf intraperitoneale Prüfung der sensibilisierten Meerschweinchen stützten. Nun ist es ja bekannt, daß für das Auslösen des anaphylaktischen Shocks bei intravenöser Nachspritzung nicht nur viel geringere Dosen genügen, sondern daß dabei die Reaktion auch viel schneller und intensiver auftritt. Es lag also nahe, zu untersuchen, ob der verschiedene Modus der Serumeinverleibung auch auf die Art und Weise des Komplementschwundes einen Einfluß hat.

Ich bin bei dieser Untersuchung genau quantitativ vorgegangen. Ich habe meine Versuche auf Pferdeserum sowie auf die aktive Anaphylaxie beschränkt, da auch in meiner ersten Arbeit nur davon die Rede war. Eine Reihe Meerschweinchen wurde mit 0,01 ccm Pferdeserum subkutan sensibilisiert und mindestens 14 Tage später, sei es intraperitoneal, sei es intravenös, nachgespritzt. Die untereinander verglichenen Tiere waren stets gleich schwer und am selben Tage sensibilisiert. Blutentnahme vor und nach der Reinjektion. Von zwei starken Hammelblutambozeptoren des Kaninchens (± 1 : 3000) benutzte ich abwechselnd die 4—6-fach lösende Dosis: je stärker man das Blut sensibilisiert, desto weniger Komplement braucht man, und desto feiner wird die Titration. Ich habe mit Rücksicht darauf das Meerschweinchenserum im Verhältnis 1 : 10 verdünnt und mit 19 verschiedenen Komplementdosen (von 0,01 bis 1,0 der Verdünnung) aufsteigend gearbeitet. Jede Verdünnung wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf je 1,5 ccm Volumen aufgefüllt. Bei den intraperitoneal nachgespritzten Tieren fand sich nach ± 5 Minuten der Komplementtiter des Serums nicht oder kaum geändert. In der folgenden Tabelle werden weiter die Zustände nach 3 bis 4 Minuten (intravenös) und nach 20—40 Minuten (intraperitoneal) bei einigen Tieren miteinander verglichen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

No.	Dosis	Komplementmenge für komplette Hämolyse vor der Reinjektion	Komplementmenge für komplette Hämolyse nach der Reinjektion	Blutentnahme nach
150	0,2 iv.	0,04[1])	0,07	4 Minuten
152	3,0 ip.	0,04	0,1	40 „
160	0,2 iv.	0,2	0,3	4 „
159	3,0 ip.	0,2	0,4	30 „
168	1,0 iv.	0,15	0,2	3 „
169	3,0 ip.	0,15	0,3	30 „
157	4,0 „	0,1	0,2	20 „
158	4,0 „	0,1	0,3	20 „

Aus dieser Tabelle geht zunächst hervor, daß die Angabe von Friedberger und Hartoch richtig ist, bei intravenöser Einspritzung von schon sehr kleinen Dosen sei eine deutliche Komplementverminderung in wenigen Minuten nach der Injektion nachweisbar. Diese ist aber noch immer geringer als der Komplementschwund bei intraperitonealer Einspritzung, welcher erst nach 20—40 Minuten maximal ist[2]). Die Meerschweinchen 157 und 158, welche ganz gleich behandelt wurden, zeigen uns, daß die Reaktion nicht für alle Tiere quantitativ genau uniform ist. Darauf habe ich übrigens schon auf p. 150 meiner ersten Arbeit hingewiesen. Aber das braucht uns gar nicht zu wundern. Gewisse quantitative Unterschiede, die sich ergeben in der individuellen Reaktion oder bei Modifikationen in der Versuchstechnik, und deren Erklärung sich aus dem oben Gesagten leicht ergibt, sollten keinen Anlaß zu wissenschaftlichen Kontroversen geben. Die Hauptsache ist, daß Friedberger und ich darüber einig sind, daß bei der anaphylaktischen Reaktion konstant ein Komplementschwund in vivo auftritt.

1) Die Unterschiede in den Zahlen von oben nach unten erklären sich durch die verschiedenen Ambozeptordosen.

2) Ich muß nach wie vor meine Behauptung aufrecht erhalten, daß die spezifische Komplementbindung, sobald sie in vivo einmal angefangen hat, auch im extravaskulären Blute noch weitergeht. Ich fand z. B. wieder in 2 Fällen:

No.	Menge der Komplementverdünnung für komplette Hämolyse vor	nach 1 Stunde	nach 8 Stunden
150 A	0,02	0,04	0,07
160 A	0,15	0,2	0,3

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Tatsache wird nun meines Erachtens gar nicht berührt von dem Versuch Jusen Tsurus, die Rolle des Komplements in dieser Frage illusorisch zu machen. Insoweit die Resultate Tsurus sich auf meine eigenen Untersuchungen beziehen (nämlich: aktive Anaphylaxie und Pferdeserum), ist seine Nachprüfung zum Teil nur eine Bestätigung meiner Angaben. Er konstatierte nämlich, daß die Verminderung des Komplements nicht mit den anaphylaktischen Symptomen parallel zu gehen braucht, eine Tatsache, worauf ich schon vor Jahresfrist hingewiesen habe. Ich habe damals daraus den Schluß gezogen, „daß die Vergiftungserscheinungen nicht die Folge des Alexinverlustes sind, sondern daß es zwei Prozesse sind, nicht direkt voneinander abhängig, doch wahrscheinlich wohl mit einer gemeinschaftlichen Ursache". Es geht denn auch gar nicht an, wie Tsuru will, dem anaphylaktischen Komplementschwund einfach alle spezifische Bedeutung abzusprechen, weil er bei nicht vorbehandelten Tieren mit ziemlich großen Dosen von normalem Hunde- und Kaninchenserum Komplementverminderung in vivo nachgewiesen hat. Für Pferdeserum hat er das offenbar nicht zeigen können, und auch nicht für ganz geringe Dosen von Hunde- und Kaninchenserum, ebensowenig wie ich bei meinen Kontrollversuchen. Uebrigens hat Tsuru überhaupt keine Komplementtitrationen mit feineren Abstufungen ausgeführt, weil er nur mit der 2-fach (ich mit der 4—6-fach) lösenden Ambozeptordosis gearbeitet hat, und weil er dabei zu große Komplementmengen angewendet hat. Aus seiner Arbeit geht nämlich nicht hervor, daß er, wie ich, von einer Komplementverdünnung 1:10 ausgegangen ist. Ich betrachte daher meine früher mitgeteilten und oben erhärteten Resultate keineswegs als von Tsuru erschüttert.

In meiner ersten Arbeit habe ich es schon ganz deutlich ausgesprochen: „Das Serum sensibler Tiere, mit Pferdeserum in vitro, bindet kein Alexin." Ich war dabei in Widerspruch mit Nicolle und Abt[1]), welche behauptet haben, daß sie den komplementbindenden Antikörper im Vitroserum ihrer mit minimalen Antigendosen vorbehandelten Tiere nachgewiesen hätten. Friedberger und Hartoch bezeichneten

1) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nun meine Angaben als nicht zutreffend, obwohl aus ihrer Arbeit nicht hervorgeht, daß sie diese Frage nachgeprüft haben. Sie schreiben von den „gründlichen Untersuchungen von Nicolle und Abt", und daß für sie (F. und H.) „kein Zweifel darüber besteht, daß das Serum aktiv anaphylaktischer Tiere komplementverankernde Antikörper enthält, und daß sie unter geeigneten Bedingungen auch nachweisbar sind." Ich habe mich darum veranlaßt gesehen, die Richtigkeit meiner eigenen Versuche in dieser Beziehung nochmals zu prüfen, und ich teile das Resultat unten in Kürze mit, obwohl Friedberger seinen damaligen Standpunkt jetzt wohl verlassen hat (diese Zeitschrift, Bd. 4, Heft 5, p. 698). Die Unrichtigkeit der Versuchsergebnisse von Nicolle und Abt bleibt daher bestehen.

Zuerst habe ich in einer Reihe von Titrationen das angebliche bindende Vermögen von Pferdeserum mit Serum von sensibilisierten Tieren (beide inaktiviert) in verschiedenen Verhältnissen untersucht und als Kontrolle die gleichen Mischungen mit normalem Meerschweinchenserum angesetzt, nach folgendem Schema:

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
überall 0,5 Kochsalz.												
0,5	0,45	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	0,0	0,0	Pferdeserum
0,0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,0	Mschw.-Ser.
überall 0,5 Komplement 1:10 (= 0,05).												

Kontakt 1 Stunde; dann werden Hammelblutkörperchen zugefügt, welche mit der 3-fach lösenden Ambozeptordosis sensibilisiert sind (1:1000).

Es zeigte sich nun, daß das Pferdeserum an sich überhaupt keine hemmende Wirkung hat. Diese kommt erst bei zunehmendem Meerschweinchenserum und abnehmendem Pferdeserum zu Gesicht; sie ist aber keineswegs eine spezifische, denn sie ist am stärksten mit dem Meerschweinchenserum allein (Röhrchen 11). Diese Eigenhemmung des Meerschweinchenserums ist übrigens eine ganz regellose: es gibt Normalsera, welche stärker hemmend wirken als anaphylaktische, und umgekehrt.

Der Versuch, genau nach der Beschreibung von Nicolle und Abt ausgeführt, gab mir das gleiche negative Resultat:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

1	2	3	4	5
0,3 Normalser.	0,3 anaph. Ser.	0,3 Normalser.	0,3 anaph. Ser.	0,3 Kochsalz
0,05 Pferdeserum		0,05 Kochsalz		0,05 Pferdeser.

Schließlich überall 0,05 Komplement. Kontakt 1 Stunde. Sensibilisiertes Blut wie in Tabelle II.

Die Hämolyse resp. die Hemmung ist in Röhrchen 1 und 3 gleich stark, ebenso gibt es zwischen 2 und 4 keinen Unterschied (No. 5 löst komplett). Auch hier hat die Gegenwart des Pferdeserums gar keinen Einfluß, und die unspezifischen Hemmungen des Meerschweinchenserums an sich haben mit der Anaphylaxie nichts zu tun. — Hiermit ist wohl diese Frage in dem ursprünglich von mir angegebenen Sinne erledigt.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß der Komplementschwund in vivo bei der Serumanaphylaxie (Sleeswijk, Friedberger und Hartoch) von dem Modus der zweiten Serumeinspritzung (intraperitoneal oder intravenös) beeinflußt wird.

Die Inkongruenz in dem Verhalten des Komplements bei Bindungsversuchen in vivo und in vitro wird näher begründet.

Postscriptum. Weil nicht zum Komplementthema gehörend, möchte ich hier nur anmerkungsweise über Versuche berichten, welche ich zur Beantwortung der Frage angestellt habe: Wo bleibt das Pferdeserum bei sensibilisierten Tieren, welche auf die intraperitoneale Einspritzung deutlich reagieren? Man muß doch annehmen, daß die Tiere erst reagieren können, wenn das Antigen in das Blut aufgenommen ist. Wäre auch nur eine Spur Antigen frei im Blute anwesend, dann müßte man das mittels der Anaphylaxie nachweisen können. Es zeigt sich aber, daß man in keiner Weise normale Meerschweinchen überempfindlich machen kann mit dem Blute (auch nicht mit größeren Mengen), welches man anaphylaktischen Tieren während des Shocks entnommen hat. Man hat also recht mit der Annahme, daß das resorbierte Pferdeserum von den Zellen des anaphylaktischen Tieres sofort gebunden resp. seiner spezifischen Eigenschaften beraubt wird.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.]

Ueber die Chloroformlöslichkeit von Typhusantigen bei Gegenwart von Lecithin.

Von Prof. **Paul Th. Müller.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. März 1910.)

In einer sehr interessanten Arbeit haben vor kurzem Pick und Schwarz die Frage zu studieren unternommen, in welcher Weise Lecithin und andere Organlipoide imstande sind, die antigenetische Wirkung von Bakterien, speziell von Typhusbacillen, Bact. coli und Choleravibrionen, zu beeinflussen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen lautete dahin, daß sich Typhusbakterien, die in 1-proz. Lecithinsuspension Tieren subkutan beigebracht werden, durch eine auffallend hohe antigenetische Fähigkeit auszeichnen und schon bei Anwendung sehr geringer Mengen in relativ kurzer Zeit hohe Agglutinationswerte in dem Serum der Versuchstiere hervorzurufen vermögen. Ganz ähnlich verhielten sich auch die Kombinationen von Typhusbacillen mit den Organlipoiden, wobei sich herausstellte, daß die Lipoide der Blutelemente (Serum und Leukocyten) den Lipoiden anderer Organe, der Leber und der Nieren, ganz beträchtlich überlegen waren, eine Tatsache, die nach Pick und Schwarz auf eine Beteiligung der Blutelemente bei dem Immunisierungsprozeß hindeuten würde. Wurden die Lecithinemulsionen der Typhusbacillen mit Typhusimmunserum zusammengebracht, so zeigte sich, daß die Agglutination bezw. Ausflockung hier viel rascher und deutlicher eintrat, als bei den gewöhnlichen, zur Anstellung der Widalschen Reaktion dienenden Aufschwemmung der Typhusbacillen. Immunsera endlich, die durch Injektion von verschiedenen Lipoidemulsionen der Typhusbacillen hergestellt worden waren, zeigten neben ihrer spezifischen Wirkung auf diese Mikroorganismen auch noch eine andere Spezifität ihrer Funktion, indem sie nämlich auf die homologen Emulsionen stärker einwirkten, als auf heterologe, mit anderen Organlipoiden hergestellte Bakterienaufschwemmungen. Alle diese interessanten

Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Beobachtungen sprechen nach Pick und Schwarz dafür, daß es in den erwähnten Lipoidbacillenemulsionen zur Bildung besonderer — von dem gewöhnlichen Typhusantigen verschiedener — Substanzen, möglicherweise von Lipoideiweißverbindungen gekommen sei, daß also die Lipoide nicht als „indifferente Vehikel für die eingeführten Substanzen" fungiert hätten, sondern daß sie „speziell beim Immunisierungsprozeß von entscheidender Bedeutung für den qualitativen und quantitativen Ablauf der Reaktion im Tierkörper seien". Als Bestätigung dieser Anschauung haben die genannten Autoren noch einige weitere bemerkenswerte Tatsachen beigebracht. Durch Behandlung von Kaninchen mit den Lipoiden des Pferdeserums war es ihnen nämlich gelungen, ein Serum herzustellen, welches die zur Immunisierung verwendeten Lipoide in markanter Weise ausflockte, eine Wirkung, die dem normalen Kaninchenserum nicht zukommt. Auf Pferdeserumlipoide, welche Typhusantigen enthalten, war dieses Immunserum völlig wirkungslos, ein Beweis, daß also die Lipoide durch die gelösten Bakteriensubstanzen derart in ihrer charakteristischen Eigenschaft verändert wurden, daß sie mit dem Immunserum nicht mehr reagieren. Endlich fand sich, daß ein Immunserum, das mit einer Emulsion von Typhusbacillen in Pferdeserumlipoiden hergestellt war, auf diese Lipoide viel stärker wirkte als das durch Injektion von viel größeren Lipoidmengen allein, ohne Bacillen gewonnene Serum. In allen diesen Fällen wurde also „die Wirkung des auf ein Kolloid eingestellten Immunserums durch Zusatz eines Kolloids in charakteristischer Weise beeinflußt, so daß die Annahme naheliegt, daß es sich in diesen Fällen keineswegs um zwei voneinander getrennte Systeme handelt, sondern daß durch die Lösung des einen Kolloids in dem zweiten ein neues System entstanden ist, das dem ursprünglichen Immunserum gegenüber sich heterolog verhält." Schließen wir uns der erwähnten Annahme von Pick und Schwarz, daß es sich bei diesen Beobachtungen um das Vorhandensein einer neuen Substanz, vermutlich einer Lipoidverbindung handle, vorläufig an, so erhebt sich für uns eine weitere Frage, die von verschiedenen Gesichtspunkten aus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Interesse sein dürfte. Nach den Erfahrungen, die man einerseits in der reinen Chemie, andererseits in der Immunochemie zu machen Gelegenheit hatte, werden die Aviditätsverhältnisse vieler wirksamer Substanzen dadurch, daß dieselben mit anderen Stoffen chemische Verbindungen eingehen oder daß besondere Molekülgruppen in sie eingeführt werden, wesentlich verändert. Es war daher die Frage berechtigt, welchen Einfluß denn die Einwirkung des Lecithins auf das Typhusantigen in dieser Richtung ausübe, ob mit derselben eine Steigerung oder eine Schwächung seiner Affinitäten zu den spezifischen Antikörpern, speziell den Agglutininen verbunden sei. Diese Fragestellung war aber gleichzeitig auch von einem biologischen Gesichtspunkt aus interessant. Denn, würde sich bei diesen Untersuchungen herausgestellt haben, daß die supponierten Lecithineiweißverbindungen tatsächlich mit größerer Avidität zu den Antikörpern ausgestattet wären, als die nativen, unveränderten Antigene, so wäre damit eine plausible Erklärung dafür gefunden, warum diese Lecithinverbindung bei den Versuchen von Pick und Schwarz von so viel größerer antigenetischer Wirkung waren, als gewöhnliche Typhusbacillen; denn man würde wohl annehmen dürfen, daß die Aviditätsunterschiede, die die beiden Arten von Antigenen gegenüber den Antikörpern aufweisen, auch den entsprechenden, immunkörperproduzierenden Gewebsrezeptoren gegenüber zu Recht bestehen würden, und daß demgemäß die mit größerer Kraft verankerten Antigene auch einen stärkeren Anreiz zur Neubildung der Antikörper setzen würden. Die folgenden Versuche beabsichtigen, diese Frage zu entscheiden.

Es wurden gleiche Mengen frischer Aufschwemmung von Typhusbacillen (20—30 ccm, etwa 3—4 Agarkulturen enthaltend) zum Teil mit Lecithin ovo (Merck) verrieben, zum Teil ohne Lecithin gelassen. Auch in Form einer alkoholischen Lösung wurde das Lecithin wiederholt zugesetzt, derart, daß eine 1-proz. Aufschwemmung bezw. Emulsion desselben resultierte. Die hierbei verwendete Alkoholmenge betrug dabei höchstens $^1/_{10}$ Volum der Typhusbacillenaufschwemmung. Endlich wurde $^1/_{10}$ Volum 5-proz. Karbolsäure zugesetzt, bei einzelnen Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchen sofort zu Beginn, bei anderen erst nach 24-stündigem Aufenthalt der Proben im Blutschrank bei 37°.

Nachdem das Lecithin 24 Stunden lang auf die Bacillen eingewirkt hatte und die Emulsion, die meist die Neigung zur Ausflockung besaß, wiederholt aufgeschüttelt worden war (was diese Neigung zu verringern schien), wurden in der üblichen und in meinen früheren „Aviditätsstudien" genauer beschriebenen Weise Absorptionsversuche mit den beiden, gleiche Bacillenmengen enthaltenden Aufschwemmungen — „Lecithintyphus" und dem „gewöhnlichen Typhus" — angestellt und die Absorptionsquotienten bestimmt, die ja, wie wir wissen, ceteris paribus einen Maßstab für die Aviditäten abgeben.

Folgende Versuchsprotokolle enthalten die diesbezüglichen näheren Daten.

I. Absorptionsversuche mit Lecithintyphusaufschwemmung.

Kaninchenimmunserum, alt, mit Karbol konserviert. Titer: 2560.

Versuch I.

In 10 ccm der Typhusaufschwemmung (karbolisiert) wurde 0,1 ccm Lecithin ovo (Lecithin 1) fein verrieben, und das Gemisch 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

a) 1 ccm Serum + 1 ccm Typhusaufschw. } ½ Std. bei Zimmertemp.,
b) 1 „ „ + 1 „ Typhuslecithinaufschw. } dann zentrifugiert.

Titer nach Absorption: a) 640
b) 640

Quotienten: a) $\frac{2560-1280}{2560} = 0{,}5$

b) $\frac{2560-1280}{2560} = 0{,}5$

Also: keine Aviditätsdifferenz.

Versuch II.

0,1 g Lecithin in 10 ccm Aqu. dest. verrieben, mit gleichem Volum der karbolisierten Typhusaufschwemmung versetzt, und 48 Stunden bei 37° gehalten. Kontrolle: 10 ccm Typh. carbol. + 10 ccm Aqu. dest.

a) 2 ccm Serum + 2 ccm Typhusaufschwemm. } ½ Std. bei Zimmertemp.,
b) 2 „ „ + 2 „ Typhuslecithinaufschw. } dann zentrifugiert.

Titer nach Absorption: a) 960
b) 960

Quotienten: a) $\frac{2560-1920}{2560} = 0{,}25$

b) $\frac{2560-1920}{2560} = 0{,}25$

Also: keine Aviditätsdifferenz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch III.

a) 10 ccm frischen, lebend. Typhusaufschw. + 0,1 g Lecith. in 1 ccm Alkohol.
b) 10 „ „ „ „ + 1 ccm Alkohol.

a) wird 24 Stunden bei 37° C gehalten, dann mit 1 ccm 5-proz Karbolsäure versetzt; b) wird sofort (bei Zimmertemperatur) mit 1 ccm Karbolsäurelösung beschickt.

a) 1 ccm Typhuslecithinaufschw. + 1 ccm Serum
b) 1 „ Typhusaufschw. + 1 ccm Serum } $^1/_2$ Std. bei Zimmertemp.

Titer nach Absorption: a) 1000
b) 1000

Quotienten: a) $\frac{2560-2000}{2560} = 0{,}22$

b) $\frac{2560-2000}{2560} = 0{,}22$

Also: keine Aviditätsdifferenz.

Versuch IV.

Wie bei Versuch III, nur wird das Serum 10-fach verdünnt, und nur $^2/_{10}$ Volum Typhusaufschwemmung zur Absorption benutzt.

Titer nach Absorption: a) 160
b) 140

Quotienten: a) $\frac{256-168}{256} = 0{,}34$

b) $\frac{256-159}{256} = 0{,}37$

Also: bei der Lecithintyphusaufschwemmung eine etwas geringere Avidität.

Das Ergebnis dieser Absorptionsversuche lautet übereinstimmend dahin, daß eine Aviditätssteigerung der Typhusantigene durch die Einwirkung des Lecithins nicht stattgefunden hat bezw. nicht nachzuweisen war. Der bei dem 4. Versuch gefundene Unterschied der beiden Typhusemulsionen ist so geringfügig, daß er wohl auf die unvermeidlichen Versuchsfehler bezogen werden darf; überdies ist diese Differenz zuungunsten der Lecithinaufschwemmung ausgefallen, bestätigt also ebenfalls nur die Richtigkeit der obigen Schlußfolgerung.

Eine Erklärung der von Pick und Schwarz gefundenen stärkeren antigenen Wirkung des „Lecithintyphus“ durch eine stärkere Avidität desselben zu den Gewebsrezeptoren findet also durch diese Versuche zum mindesten keine Stütze.

Verfolgt man nun aber den hier eingeschlagenen Gedankengang weiter und erwägt die Möglichkeit, ob es sich bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

den Beobachtungen der beiden Autoren nicht doch um eine antigenetisch wirkende Substanz von ungewöhnlich hoher Speicherungsfähigkeit handeln konnte, so ergibt sich sofort eine weitere Fragestellung, die der experimentellen Bearbeitung zugänglich ist. Bedenkt man nämlich, daß die Speicherungsfähigkeit vieler wirksamer Substanzen in direktem Zusammenhang mit ihrer Löslichkeit in den Gewebslipoiden steht, so konnte man sich fragen, ob sich die supponierten „Lecithineiweißverbindungen" nicht vielleicht durch eine höhere Lipoidlöslichkeit auszeichnen als das gewöhnliche Typhusantigen.

Um hierüber Aufschluß zu erlangen, suchte ich zunächst zu ermitteln, ob es möglich ist, mit den gewöhnlichen fettlösenden Stoffen, speziell mit Chloroform, Antigen aus dem Lecithintyphusgemisch zu extrahieren. Diese Versuche wurden in der Weise angestellt, daß zunächst, wie bei den früher geschilderten Experimenten, je 25 ccm frischer Typhusaufschwemmung a) mit Lecithin versetzt, b) ohne Lecithin gelassen wurden, während eine dritte Probe, die als Kontrolle diente, nur 25 ccm Aqu. destillata und die gleiche Lecithinmenge wie Probe a erhielt, jedoch keine Bacillen zugesetzt bekam. Nach 24-stündigem Aufenthalt der Proben im Brutschrank wurde jede Probe mehrere Minuten lang mit 25 ccm Chloroform geschüttelt, das Chloroform dann, nach kurzem Zentrifugieren des Gemisches, sorgfältig abpipettiert und filtriert, wobei besonders darauf geachtet wurde, daß keine kleinsten Tröpfchen wässeriger Bacillenemulsion mit durch das Filter gingen. Die spiegelklaren Filtrate wurden dann bei 37° eingedampft, die erhaltenen Rückstände in wenig Alkohol aufgenommen (meist mit 2 ccm) und, zum Zwecke des Absorptionsversuches, mit dem doppelten bis dreifachen Volumen stark verdünnten Typhusimmunserums vermischt. Nach etwa $^1/_2$-stündigem Verweilen der Proben bei Zimmertemperatur wird von der entstandenen Fällung bezw. Ausflockung abzentrifugiert oder — nötigenfalls — auch abfiltriert und das Filtrat auf seinen Agglutiningehalt austitriert. War tatsächlich Antigen in das Chloroform übergegangen, so mußte der Agglutiningehalt des Serums beträchtlich abgenommen haben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Ergebnis dieser Versuche ist aus den folgenden Versuchsprotokollen zu entnehmen:

Versuch V.

a) 25 ccm Ty-Aufschw. + 2,0 Alkohol-Lecithin (0,25 g) } bei 37°
b) 25 „ „ + 2,0 Alkohol } gehalten.
c) 25 „ Aqu. dest. + 2,0 Alkohol-Lecithin (0,25 g) }

Nach 24 Stunden mit 25 ccm Chloroform geschüttelt, das Chloroform filtriert, eingedampft (bei 37°). — Der Rückstand in je 1,5 ccm Alkohol gelöst. Davon je 1 ccm + 3 ccm 100-fach verdünnten Immunserums vom Titer 2850.

Ergebnis der Titration nach Abzentrifugieren der entstandenen Fällung:

Probe a) Titer: 12,5 AE. — absorbierte AE.: $11{,}9 \times 3 = 35{,}7$
b) „ 20,0 „ — „ „ $1{,}9 \times 3 = 5{,}7$
c) „ 20,0 „ — $1{,}9 \times 3 = 5{,}7$

Quotienten: a) $\frac{28{,}5-16{,}6}{28{,}5} = \mathbf{0{,}47}$

b) $\frac{28{,}5-26{,}6}{28{,}5} = \mathbf{0{,}07}$

c) $\frac{28{,}5-26{,}6}{28{,}5} = \mathbf{0{,}07}$

Versuch VI.

Anordnung wie Versuch V. Nur Serum 200-fach verdünnt; zu 1,5 ccm der alkohol. Lösung des Abdampfrückstandes kamen 3 ccm Serum.

Probe a) Titer: < 0,5 AE.
b) „ : 10,0 „
c) „ : 10,0 „

Quotienten: a) $> \frac{14{,}2-0{,}75}{14{,}2} = > \mathbf{0{,}94}$

b) $\frac{14{,}2-15}{14{,}2} = \mathbf{0}$

c) $\frac{14{,}2-15}{14{,}2} = 0$

Das Ergebnis dieser Versuche war, wie man sieht, vollkommen eindeutig:

Uebersichtstabelle.

Versuch	Absorptionsquotienten		
	Ty-Lecithin	Ty-B. allein	Lecithin allein
V	0,47	0,07	0,07
VI	> 0,94	0	0

Während der Chloroformextrakt der Lecithinaufschwemmung und der Typhusbacillen allein nichts oder so gut wie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nichts aus dem Immunserum zu absorbieren vermochte, zeigte der Extrakt der Lecithinbakterien eine ganz deutliche, wenn auch nicht sehr erhebliche Absorptionsfähigkeit für die Typhusagglutinine. Es war also zweifellos aus der mit Lecithin digerierten Typhusbacillenaufschwemmung Antigen in das Chloroform übergetreten, nicht aber aus der Kontrollprobe ohne Lecithin.

Eine vollkommene Bestätigung dieser Befunde brachten einige weitere Versuche, bei welchen der Antigennachweis nicht durch den Absorptionseffekt sondern durch den immunisatorischen Effekt des Chloroformextrakts geliefert wurde.

Versuch VII.

Darstellung der Extrakte wie oben. Der Abdampfrückstand in 2 ccm Alkohol gelöst und mit 4 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünnt.

18. XI. 09 Kan. a: erhält den Extrakt aus Ty-Lecithin intravenös
„ b: „ „ „ „ Ty ohne Lecithin intrav.

	Serumtiter	
	Kan. a (Ty-Lecithin)	Kan. b (Ty allein)
18. XI. (vor Injektion)	θ	θ
26. XI.	32	θ
29. XI.	64	θ

Versuch VIII.

Anordnung wie bei VII.

	Serumtiter	
	Kan. a (Ty-Lecithin)	Kan. b (Ty allein)
29. XI. (vor Injektion)	θ	θ
9. XII.	32	θ

Auch aus diesen Versuchen geht hervor, daß nur aus den Typhus-Lecithinaufschwemmungen Antigen mit Hilfe von Chloroform zu extrahieren war, nicht aber aus der lecithinfreien Bakteriensuspension.

Der Nachweis einer gewissen Löslichkeit des Antigens in fettlösenden Mitteln bei Gegenwart von Lecithin erscheint somit tatsächlich gelungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wäre nun aber zweifellos ein voreiliger Schluß, wenn man diese Beobachtungen sofort für eine Bestätigung der Annahme von Pick und Schwarz ansehen und als Beweis dafür gelten lassen wollte, daß tatsächlich eine Verbindung zwischen Antigen und Lecithin besteht, die in das Chloroform übergeht. Es wäre nämlich auch noch eine zweite Möglichkeit ins Auge zu fassen: daß nämlich das (freie) Antigen zwar in Chloroform an und für sich unlöslich wäre, aber sich in Chloroform + Lecithin lösen würde und nur durch diesen letzteren Stoff, das Lecithin, in das Chloroform hineingezogen und darin in Lösung gehalten würde. Derartige Verhältnisse sind ja in der organischen wie in der anorganischen Chemie außerordentlich häufig, und nach den Versuchen von Landsteiner und v. Eisler, sowie Bang und Forssmann auch für die lysinogenen Substanzen der Erythrocyten zu Recht bestehend. Besonders der Umstand, daß die Antigenmenge, die in das Chloroform übergeht, sowohl ihrer Absorptionswirkung wie ihrer antigenetischen Wirkung nach so außerordentlich geringfügig ist, konnte vielleicht in diesem Sinne gedeutet werden und als ein Zeichen dafür angesehen werden, daß keine besondere in Chloroform lösliche Antigenverbindung vorliegt, sondern nur eine minimale Löslichkeit von Typhusantigen in Lecithin + Chloroform.

Freilich wäre aber diese Ueberlegung — trotz ihrer unleugbar großen Plausibilität — doch noch keineswegs absolut überzeugend. Denn da für eine eventuelle Bindung von Typhusantigen an Lecithin und besonders für einen Uebertritt des entstandenen Produktes in das Chloroform natürlicherweise nur das freie, aus den Typhusbacillen in die Suspensionsflüssigkeit ausgetretene Antigen in Betracht kommt, diese Menge aber wenigstens in jungen, noch nicht der Aufschwemmung verfallenen Kulturen im Verhältnis zur Masse der Bakterienleiber nur eine relativ geringfügige ist, so würde man auch von diesem Standpunkt aus keine allzu großen Antigenmengen im Chloroformextrakt erwarten dürfen [1]).

1) Auf den bakteriolytischen Einfluß des Lecithins kommen wir bald zurück.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auf Grund der vorliegenden Experimente und Erwägungen war somit zu keiner Klarheit über die aufgeworfene Frage zu gelangen.

Eine andere Richtung nahmen nun die Versuche an, als ich zwei neue Lecithinpräparate, beide Marke Ovo von Merck, in Verwendung nahm. Es stellte sich bei denselben nämlich heraus, daß es mit ihnen nicht gelang, Antigen in das Chloroform überzuführen. Das eine der beiden Präparate zeigte dabei, wie das früher benutzte, starke spontane Ausflockung in wässeriger Suspension, einerlei ob es von vornherein durch Verreiben emulsioniert oder ob es zuerst in Alkohol gelöst und dann erst zu der wässerigen Typhusbacillenaufschwemmung zugesetzt wurde. Das andere Präparat dagegen gab eine sehr schöne stabile Emulsion. Auch der Rückstand des Chloroformextraktes der Bacillen zeigte in diesem Falle beim Zusatz der Serumverdünnung dieselbe Stabilität und setzte beim Zentrifugieren nur ganz wenig Niederschlag ab, so daß also die milchig getrübte Flüssigkeit zur Titration verwendet werden mußte, was sich jedoch keineswegs störend bemerkbar machte.

Es genügt wohl, als summarischen Bericht über diese Versuche mitzuteilen, daß mit beiden frischen Lecithinpräparaten je dreimal experimentiert wurde, und zwar jedesmal mit völlig eindeutigem negativen Resultat. Dagegen waren zwei andere mindestens 2 Jahre alte Präparate vollkommen wirksam.

Man wird diese Ergebnisse wohl dahin deuten dürfen, daß für den Uebertritt von Antigen in das Chloroform-Lecithin neben dem Lecithin noch andere Beimengungen desselben — vielleicht Zersetzungsprodukte — in Betracht kommen, die in dem einen Präparate vorhanden waren, in den beiden Präparaten jüngeren Datums dagegen fehlten. Welcher Art freilich die Wirkung dieser Beimengungen sein dürfte, ist nicht ohne weiteres klar. Einmal wäre es nämlich denkbar, daß sie — und nicht das Lecithin an sich — es wären, welche die Löslichkeit des Antigens in Chloroform bedingen würden. Viel wahrscheinlicher ist jedoch, daß ihre Wirkung eine ganz anders geartete ist. Bassenge[1]) hat nämlich vor einiger

1) Bassenge, Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 29.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 21:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit beobachtet, daß eine alte, 1-proz. Aufschwemmung von Lecithin in destilliertem Wasser Typhusbacillen auflöst und aus den Leibern eine nichttoxische Substanz austreten läßt.

Die supponierten Beimengungen des Lecithins dürften demnach vielleicht in dem Sinne wirken, daß sie aus den Bacillenleibern chloroformlösliche Bestandteile in Freiheit setzen und dadurch erst die Vorbedingung dafür schaffen würden, daß Antigensubstanz bei der Extraktion in das Chloroform übertreten kann. Ob diese Antigensubstanz dabei an und für sich oder erst durch Vermittelung des Lecithins als chloroformlöslich zu denken wäre, wäre eine besondere Frage.

Ich versuchte nun zunächst festzustellen, ob die Dauer der Berührung zwischen den Bakterien und dem Lecithin von wesentlichem Einfluß auf das Resultat der Chloroformextraktion ist. Zu diesem Zwecke wurde die eine Probe in der bisher geschilderten Weise 48 Stunden mit dem (alten) Lecithinpräparat digeriert, bei der anderen Probe, die genau die gleiche Zeit im Brutschrank verweilte, wurde das Lecithin erst im letzten Moment, einige Minuten vor der Einwirkung des Chloroforms, zugesetzt.

Versuch IX.

a) Lecithinzusatz unmittelbar vor der Extraktion		30 ccm Bacillenemulsion, 0,3 ccm Lecithin, 30 ccm Chloroform
b) „ 48 Stunden „ „ „		

Mengenverhältnis und sonstige Anordnung wie bei den früheren Versuchen.

Chloroformextrakt (in 2 ccm Alkohol gelöst) + 4 ccm Serum (200-fach verdünnt).

Titer vor der Absorption: 10 AE.
„ nach „ „ a) 2,9 „
b) 2,5 „

Quotienten: a) $\frac{10,0-2,9}{10} = \mathbf{0,71}$

b) $\frac{10,0-2,5}{10} = \mathbf{0,75}$

Wie man sieht, ist der Unterschied zwischen den Ergebnissen bei 24-stündiger und bei nur wenige Minuten andauernder Einwirkung des Lecithins auf die Bakterien ein minimaler. Jedenfalls muß also, wenn tatsächlich erst durch das Lecithin

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die chloroformlösliche Substanz aus den Bakterien freigemacht wird, dieser Vorgang außerordentlich rasch vor sich gehen. In der Tat hat denn auch Bassenge gefunden, daß die Typhusbacillen in 1-proz. Lecithinemulsion „sofort schrumpften, in einzelne stark lichtbrechende Granula zerfielen, kurz, daß das prägnante Bild des Pfeifferschen Versuches entstand". In 1-prom. Emulsion trat diese Veränderung dagegen erst nach 30—60 Minuten und in weit geringerem Maße auf. Unser eben angeführtes Versuchsergebnis wäre also, wie sich hieraus ergibt, mit den Befunden von Bassenge in bestem Einklang, in dem es gleichfalls auf den außerordentlich raschen Zerfall der Bakterien, der bei der weiteren Einwirkung des Lecithins nicht wesentlich weiter fortschreitet, schließen lassen würde.

Größer sind allerdings die Differenzen, wenn man, wie im folgenden Versuch, die Einwirkung des Lecithins auf die Bakterien möglichst abzukürzen trachtet.

Versuch X.

a) Lecithinzusatz unmittelbar vor der Extraktion
b) „ 48 Stunden „ „ „

Chloroformextrakt in 2 ccm Alkohol gelöst + 4 ccm Serum (200-fach verdünnt).

Titer vor der Absorption: a) und b) 10 AE.
„ nach „ „ a) 8,0 AE.
b) 2,5 „

Quotienten: a) $\frac{10-8}{10} = \mathbf{0,2}$

b) $\frac{10-2,5}{10} = \mathbf{0,75}$

Versuch XI.

Von diesem Versuch ab fand ein anderes, ebenfalls bereits mehrere Jahre altes Lecithin Verwendung (Lecithin 2).

Titer vor der Absorption: 10 AE.
„ nach „ „ a) 5,7 „
b) 3,6 „

Quotienten: a) $\frac{10-5,7}{10} = \mathbf{0,43}$

b) $\frac{10-3,6}{10} = \mathbf{0,64}$

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Uebersichtstabelle.

Versuch No.	Absorptionsquotienten bei 48-stündiger Einwirkung des Lecithins	bei kurzdauernder Einwirkung des Lecithins
XVI	0,75	0,71
XVII	0,75	0,2
XVIII	0,64	0,43
Mittel	0,71	0,45

Zweifellos geht mithin aus diesen drei Versuchen hervor, daß die Dauer der Einwirkung des Lecithins auf die Bakterien zwar von Einfluß auf die Menge des in Chloroform übergehenden Antigens ist, daß jedoch schon nach wenigen Minuten ein Maximum erreicht wird, über das hinaus diese Menge auch bei tagelanger Einwirkung nicht mehr zunimmt.

Auch diese letzteren Versuche stehen übrigens — wie kaum besonders betont zu werden braucht — mit den Befunden von Bassenge in vollkommenem Einklang, da ja natürlicherweise die Wirkung des Lecithins keine momentane sein kann, sondern vielmehr stets eine gewisse, wenn auch nur kurze Zeitdauer zur Auflösung der Bakterien erforderlich ist.

Wenn wir das bisherige Ergebnis dieser Versuche zusammenfassen wollen, so kann man also wohl als höchstwahrscheinlich hinstellen, daß die alten Lecithinpräparate bei ihrer nachweisbaren bakteriolytischen Wirkung aus den Typhusbacillen jene Antigensubstanzen in Freiheit setzen, die dann in das Chloroform übergehen. Hingegen geben die aufgeführten Versuche keinen Aufschluß darüber, welche Rolle dem Lecithin bei dem Uebertritt dieser Antigensubstanzen in das Chloroform zukommt.

In dieser Richtung suchte ich nun festzustellen, ob die bereits einmal mit Lecithin behandelte und mit Chloroform extrahierte Bacillenaufschwemmung bei Wiederholung dieser ganzen Prozedur neuerdings Antigen in das Chloroform-Lecithin übertreten läßt oder nicht. Gleichzeitig und als eine Art von Kontrollversuch wurde ermittelt, ob die einmal mit Lecithin behandelten Bakterienaufschwemmungen auch bei wiederholter

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Extraktion mit Chloroform allein, ohne weiteren Lecithinzusatz, Antigen an das Extraktionsmittel abgeben.

Versuch XII.

30 ccm Bakterienaufschwemmung, die 48 Stunden mit Lecithin in Berührung war, dann mit 30 ccm Chloroform extrahiert worden war, wurde neuerdings mit 0,3 Lecithin versetzt und sofort mit 30 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Der Rückstand in 2 ccm Alkohol gelöst + 4 ccm Serum (200-fach verdünnt).

Titer vor Absorption: 10 AE.
nach „ 2 „

Absorptionsquotient: $\frac{10-2}{10} = \mathbf{0,8}$

Versuch XIII.

Wie oben.

Titer vor Absorption: 10 AE.
nach „ 2,5 „

Quotient: $\frac{10-2,5}{10} = \mathbf{0,75}$

Versuch XIV.

Probe b: wie oben.

Probe a: nach der ersten Einwirkung des Lecithins und Extraktion mit Chloroform wird nicht neuerdings Lecithin hinzugefügt, sondern nur mit 30 ccm Chloroform ausgeschüttelt.

Titer vor Absorption: 10 AE.
nach „ a) 8 „
b) 4,0 „

Quotienten: a) $\frac{10-8}{10} = \mathbf{0,2}$

b) $\frac{10-4}{10} = \mathbf{0,6}$

Versuch XV.

Zu diesem und den folgenden Versuchen wurde ein drittes, ebenfalls sehr altes Lecithinpräparat (Lecithin 3) benutzt.

Probe b und a vom vorigen Versuch wurden ein drittes Mal mit Chloroform extrahiert, und zwar b nach neuerlichen Lecithinzusatz, a ohne solchen.

Titer vor Absorption: 10 AE.
nach „ a) 10 „
b) 0 „

Quotienten: a) $\frac{10-10}{10} = \mathbf{0}$

b) $\frac{10-0}{10} = \mathbf{1,0}$

Versuch XVI.

Probe d: Dreimal mit Chloroform extrahiert, unter jedesmaligem Lecithinzusatz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Probe c: Das erste Mal mit Lecithin versetzt und das zweite und dritte Mal ohne Lecithin mit Chloroform allein extrahiert.

Titer vor Absorption:		10	AE.
nach „	c_1:	0	„
	c_2:	10	„
	c_3:	10	„
	d_1:	0	„
	d_2:	0	„
	d_3:	0	„

Quotienten:

$$c_1: \frac{10-0}{10} = \mathbf{1{,}0}$$

$$c_2: \frac{10-10}{10} = \mathbf{0}$$

$$c_3: \frac{10-10}{10} = \mathbf{0}$$

$$d_1: \frac{10-0}{10} = \mathbf{1{,}0}$$

$$d_2: \frac{10-0}{10} = \mathbf{1{,}0}$$

$$d_3: \frac{10-0}{10} = \mathbf{1{,}0}$$

Versuch XVII.

Probe e: 4mal mit Chloroform extrahiert, nach jedesmaligem Lecithinzusatz.

Probe f: 4mal mit Chloroform extrahiert, wobei nur das erste Mal Lecithin zugesetzt worden war.

Titer vor Absorption:		10	AE.
nach „	e_2:	0	„
	e_3:	0	„
	e_4:	3,3	„
	f_2:	10	„
	f_3:	10	„
	f_4:	10	„

Dann wurde ein fünftes Mal extrahiert, und zwar

Probe e mit Chloroform allein,
f mit Lecithin und Chloroform.

Titer e_5 (Chloroform allein):		10	AE.
f_5 (Lecithin-Chloroform):		2	„

Quotienten:

$$e_2: \frac{10-0}{10} = 1{,}0$$

$$e_3: \frac{10-0}{10} = 1{,}0$$

$$e_4: \frac{10-3{,}3}{10} = 0{,}67$$

$$f_2: \frac{10-10}{10} = 0$$

$$f_3: \quad = 0$$

$$f_4: \quad = 0$$

$$e_5: \frac{10-10}{10} = 0$$

$$f_5: \frac{10-2}{10} = 0{,}8$$

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zunächst geht aus diesen Versuchen hervor, daß tatsächlich bei erneutem Lecithinzusatz wiederum Antigen, und zwar annähernd in der gleichen Menge wie früher, in das Chloroform übergeht. Folgende kleine Uebersichtstabelle, welche die früher bei einmaliger und jetzt bei zweimaliger Extraktion unter sonst gleichen Versuchsbedingungen erhaltenen Absorptionsquotienten wiedergibt, läßt diese Tatsache sehr deutlich erkennen.

Absorptionsquotienten bei einmaliger Extraktion mit Lecithin-Chloroform	bei zweimaliger Extraktion mit Lecithin-Chloroform
0,75	0,8
0,75	0,75
0,64	0,6
1,0	1,0
Mittel 0,78	0,78

Man sieht, die Absorptionsquotienten, die ein Maß für die in das Chloroform übergegangenen Antigenmengen abgeben, sind bei der ersten Extraktion ebenso groß wie bei der zweiten. Die gleiche Beobachtung wurde dann in weiteren Versuchen auch bei dreimaliger Extraktion gemacht, während bei viermaliger Extraktion ein niedrigerer Wert gefunden wurde.

Wie verhalten sich nun aber die Ergebnisse der Extraktion ohne neuerlichen Lecithinzusatz zu den eben geschilderten Tatsachen? Folgende Tabelle gibt die Antwort auf diese Frage.

Absorptionsquotienten der zweiten, dritten und vierten Extraktion mit jedesmaligem Lecithinzusatz	ohne Lecithinzusatz
0,6	0,2
1,0	0
1,0	0
1,0	0
1,0	0
0,67	0
Mittel 0,88	0,03

Während, wie schon gesagt, bei jedesmaligem erneuten Lecithinzusatz stets wieder annähernd dieselbe Antigenmenge

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in das Chloroform überging, war bei wiederholter Extraktion mit Chloroform allein kein oder fast kein Antigen in dem Abdampfrückstand des Extraktionsmittels nachzuweisen. Der alleinstehende Befund, bei welchem einmal eine geringe Absorption (Quotient 0,2) beobachtet wurde, ist wohl auf einen Versuchsfehler zu beziehen, durch den die Titergrenze um einen Stufengrad verschoben erschien.

Aus diesen Feststellungen ergeben sich nun eine Reihe von Konsequenzen. Zunächst ist klar, daß die Löslichkeit der Antigensubstanz in Chloroformlecithin nur eine sehr geringe sein kann. Denn obwohl zweifellos in den einmal mit Lecithin digerierten Kulturen relativ große Mengen freien Antigens vorhanden sind, so daß selbst bei mehrmals wiederholter Extraktion keine Erschöpfung desselben eintritt, sondern vielmehr stets immer wieder die gleichen Antigenmengen in das Chloroformlecithin übergehen, ist doch, wie wir gesehen haben, die absolute Zahl der jedesmal extrahierten Agglutinineinheiten eine minimale. Mit anderen Worten, die früher in Erwägung gezogene Möglichkeit, daß die geringe Ausbeute an chloroformlöslichem Antigen darauf zurückzuführen sein könnte, daß in den Kulturen nur eine minimale Menge freier gelöster Bakteriensubstanz vorhanden wäre, muß auf Grund dieser Versuche wohl fallen gelassen werden. Sie mußte übrigens auch schon mit Rücksicht auf die früher erwähnten Befunde von Bassenge über die Bakteriolyse durch altes Lecithin als wenig wahrscheinlich bezeichnet werden.

Wenn somit nur so wenig Antigen in das Chloroformlecithin übertritt, so kann dies, wie gesagt, also nur an der außerordentlich geringen Löslichkeit dieser Substanz in dem gewählten Extraktionsmittel gelegen sein. Welche Rolle spielt nun aber das Lecithin hierbei?

Bei unserer früheren Diskussion der verschiedenen vorliegenden Möglichkeiten hatten wir die Anschauung von Pick und Schwarz zum Ausgangspunkte genommen, nach welcher sich bei der Einwirkung des Lecithins auf die Bakterien eine Antigenlecithinverbindung bildet, von der wir die Annahme

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

machten, daß sie chloroformlöslich sei. Auch für diese Möglichkeit haben sich nun bei unseren Versuchen keinerlei Anhaltspunkte gefunden. Denn wäre tatsächlich bei der ersten langdauernden Einwirkung des Lecithins eine solche Verbindung in beträchtlicherer Menge entstanden, so hätten die nachfolgenden Extraktionen mit Chloroform allein ebenfalls die gleiche Ausbeute an Antigen liefern müssen, wie die Extraktionen mit Chloroform + Lecithin. Da dies jedoch nicht der Fall war, so liegt zum mindesten kein Grund vor, die Entstehung einer solchen chloroformlöslichen Antigenverbindung mit Lecithin anzunehmen [1]).

Nach alledem scheint also nur mehr die eine Deutung unserer Befunde übrig zu bleiben, daß dem Lecithin, abgesehen von seiner bakteriolytischen Wirkung, durch die es Antigen aus den Bakterienleibern in Freiheit setzt, noch eine zweite Rolle zukommt, die darin zu sehen wäre, daß es die Löslichkeit einer bestimmten, wenn auch nur sehr kleinen Antigenmenge in Chloroform vermittelt.

Der negative Ausfall der Extraktionsversuche mit Chloroform allein würde sich dann nach dieser Auffassung zwanglos dadurch erklären, daß Chloroform eben an und für sich kein Lösungsmittel für die Antigensubstanz darstellt, sondern daß die letztere erst durch die Anwesenheit des Lecithins in Spuren chloroformlöslich wird.

Zur weiteren Klarlegung dieser Rolle, die wir dem Lecithin zuzuschreiben geneigt waren, wurden folgende Versuche angestellt.

Chloroformextrakt aus Lecithinbakterien wurde in möglichst wenig Alkohol gelöst und dann mit dem gleichen oder doppelten Volum von Wasser versetzt. Dabei scheidet sich der größte Teil des im Alkohol gelösten Lecithins in Form einer flockigen Fällung ab, während eine klare oder ganz leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit zurückbleibt, die nur ganz geringe Lecithinmengen mehr enthält. Ist nun das Antigen tatsächlich

1) Ob jedoch nicht vielleicht eine solche Verbindung zwischen Antigen und Lecithin zustande kommt, die nicht chloroformlöslich ist, das ist eine andere Frage, auf die wir hier nicht eingehen können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur infolge seiner Lecithinlöslichkeit in das Chloroform übergegangen, so wäre wohl denkbar, daß es auch unter den geschilderten Versuchsbedingungen an dem Lecithin haften bliebe und somit mit dem Niederschlage ausfallen würde. Um diese Frage zu entscheiden, wurde daher einerseits die erhaltene klare Flüssigkeit auf ihren Antigengehalt geprüft, andererseits das ausgeflockte Lecithin in Chloroform gelöst, filtriert, eingedampft und der Rückstand weiter verarbeitet.

Das Ergebnis dieser Versuche findet sich in den folgenden Versuchsprotokollen niedergelegt.

Versuch XVIII.

500 ccm dichter Typhusbacillenemulsion (ca. 100 gewöhnliche Agarkulturen enthaltend) werden mit 5 g Lecithin in alkoholischer Lösung (8 ccm) versetzt und 48 Stunden bei 37° bebrütet. Darauf wird die Emulsion mit 350 ccm Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform spiegelklar filtriert, und je 5 ccm desselben in kleinen Porzellanschälchen bei 37° eingedampft.

Der Rückstand eines Schälchens wird in 4 ccm Alkohol gelöst und mit 6 ccm destilliertem Wasser versetzt. Der entstehende flockige Niederschlag wird abzentrifugiert, die klare Flüssigkeit filtriert. Das Filtrat (Fraktion W) beträgt 6,5 ccm. Andererseits wird die flockige Fällung in ca. 10 ccm Chloroform gelöst, zentrifugiert, klar filtriert, und das Chloroform bei 37° abgedunstet. (Fraktion C.)

Fraktion W wird nun mit 0,5 ccm eines dreifach verdünnten Immunserums mit dem Titer 3000 versetzt. Gesamtvolum: 7 ccm; darin enthalten: 500 AE. Beim Stehen des Gemisches bildet sich erst eine Trübung, dann ein flockiger Niederschlag vom Charakter eines spezifischen Präzipitates. Nach Abzentrifugieren der Fällung wird die Flüssigkeit auf ihren Agglutiningehalt titriert.

$$\text{Titer vor Absorption: } \frac{500}{7} = 71 \text{ AE.}$$

$$\text{nach } \quad ,, \quad = 66 \text{ AE.}$$

$$\text{Absorptionsquotient: } \frac{5}{71} = \mathbf{0{,}076}$$

Absorbierte Agglutininmenge: 500—462 = 38 AE.

Die Gesamtmenge der Flüssigkeit hätte absorbiert:

$$\frac{38 \times 10}{6{,}5} \text{ AE.} = \mathbf{58 \text{ AE.}}$$

Fraktion C wird in 3 ccm Alkohol gelöst, mit 6 ccm 200-fach verdünnten Serums versetzt. Nach dem Zentrifugieren titriert:

Titer vor Absorption:	10 AE.
nach ,,	10 ,,
Absorbiert:	**0 AE.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch XIX.

Der Inhalt eines zweiten Schälchens wie bei Versuch XVIII verarbeitet.

Fraktion W (6 ccm) wird mit 1 ccm 26-fach verdünntem Serum versetzt; darin enthalten: 115 AE. Das Gemisch läßt einen flockigen Niederschlag ausfallen, der abzentrifugiert wird.

$$\text{Titer vor Absorption: } \frac{115}{7} = 16{,}4 \text{ AE.}$$

$$\text{nach } \quad „ \quad : 10 \text{ AE.}$$

$$\text{Absorptionsquotient: } \frac{6{,}4}{16{,}4} = \mathbf{0{,}39}$$

Absorbierte Agglutininmenge: 48,8 AE.

Die Gesamtmenge der Flüssigkeit hätte absorbiert:

$$\frac{44{,}8 \cdot 10}{6} = \mathbf{74{,}6 \text{ AE.}}$$

Fraktion C wird in 2 ccm Alkohol gelöst; dazu 4 ccm Serum 200-fach verdünnt. Titration nach Abzentrifugieren der entstandenen Fällung.

Titer vor Absorption: 10 AE.
nach „ : 10 „
Absorbiert: **0 AE.**

Versuch XX.

Wie bei dem vorhergehenden Experiment. Der Schaleninhalt in 4 ccm Alkohol gelöst; + 4 ccm H_2O; dann abzentrifugiert und klar filtriert.

Fraktion W: 3,8 ccm + 0,2 Serum 15-fach verdünnt. Zur Kontrolle: 3,8 ccm H_2O + 0,2 Serum 15-fach verdünnt.

Fraktion W läßt einen mäßigen flockigen Niederschlag ausfallen. Das Zentrifugat wird austitriert.

Kontrolle: Titer 10,0 AE.
Fraktion W: „ $< 0{,}5$ „

$$\text{Absorptionsquotient: } > \frac{10-0{,}5}{10} = > \mathbf{0{,}95.}$$

Absorbierte AE.: 38,0.

Die Gesamtflüssigkeitsmenge hatte absorbiert:

$$\frac{38{,}0}{3{,}8} \cdot 8 = \mathbf{80 \text{ AE.}}$$

Fraktion C zeigt auch hier, wie früher, keine Absorption von Agglutinin.

Uebersichtstabelle.

Versuch	Agglutinierte Einheiten absorbiert durch	
	Fraktion W	Fraktion C
11	58	0
12	74,6	0
13	80,0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß das Lecithin, welches sich beim Verdünnen der alkoholischen Lösung des Chloroformextraktes mit Wasser abgeschieden hatte, nicht imstande war, das Antigen mitzureissen, daß dieses letztere vielmehr in dem wässerigen Anteil des Gemisches zurückgeblieben ist.

Wenn man nun, wie dies in den folgenden Versuchen geschehen ist, die Fraktion W, also die von dem größten Teil des Lecithins befreite wässerige Lösung des Antigens mit Chloroform schüttelt, und dann sowohl den erhaltenen Chloroformrückstand als die extrahierte wässerige Flüssigkeit auf ihre Bindungsfähigkeit für Agglutinine prüft, so findet man, daß beide Fraktionen keine Spur von Absorption mehr aufweisen.

Versuch XXI.

Fraktion W mit 10 ccm Chloroform extrahiert; das Chloroform filtriert.

a) Der Chloroformrückstand in 2 ccm Alkohol gelöst + 4 ccm Serum (200-fach verdünnt).

b) Die filtrierte wässerige Flüssigkeit bei 37° C eingetrocknet, in 2 ccm Kochsalzlösung gelöst + 4 ccm (Serum 200-fach verdünnt).

Titer vor Absorption:		10 AE.
nach „	a)	10 „
	b)	10 „

Versuch XXII.

Verläuft genau wie Versuch XXII.

Versuch XXVIII.

2 Fraktionen W.

a) Mit gleichem Volum Chloroform geschüttelt, das Chloroform und die wässerige Flüssigkeit filtriert, jede Fraktion getrennt eingedampft (37°) die Rückstände in 2 ccm Alkohol bezw. 2 ccm Kochsalzlösung gelöst + 4 ccm Serum (200-fach verdünnt).

b) Mit gleichem Volum Chloroform geschüttelt, das Chloroform eingedampft, dann die wässerige Fraktion in dieselbe Schale gebracht und eingeengt. Der Rückstand in 2 ccm Alkohol gelöst + 4 ccm Serum (200-fach verdünnt).

Titer vor Absorption:		10 AE.
nach „		
a) Chloroformrückstand:		10 AE.
wässerige Fraktion:		10 „
b) beide Fraktionen vereinigt:		10 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Versuche zeigen somit, daß die nochmalige Berührung des Antigens mit Chloroform, und zwar bei Abwesenheit größerer Lecithinmengen, seine absorbierende Kraft vollkommen vernichtet hat, da ja weder der Chloroformrückstand noch die extrahierte wässerige Flüssigkeit mehr imstande war, Agglutinin zu binden.

Wie Versuch XVI (p. 600) beweist, geht diese Zerstörung des Antigens durch Chloroform jedoch in merklicher Weise nur dann vor sich, wenn das Antigen, wie bei unseren Extrakten, in sehr verdünnter Lösung vorhanden ist. Denn als bei dem erwähnten Experiment die Bacillenemulsion, die bereits 4mal mit Chloroform ausgeschüttelt worden war, ein fünftes Mal, diesmal aber unter Lecithinzusatz mit Chloroform extrahiert wurde, ging wieder Antigen in Lösung, ein Beweis, daß es unter der wiederholten Einwirkung des Chloroforms nicht in dem gleichen Maße gelitten hatte wie die antigenarme wässerige Aufschwemmung der Lecithin-Chloroformextrakte. Offenbar kommt es also auf das quantitative Verhältnis zwischen Chloroform und Antigen oder auf das Fehlen schützender Eiweißkörper u. dergl. in der Antigenlösung an.

Diese antigenzerstörende Wirkung des Chloroforms ist an sich nichts weiter Merkwürdiges und ist auch bereits von einer Reihe von anderen Forschern beobachtet worden. Was uns jedoch an dieser Stelle interessiert, ist, daß diese Beobachtung nun ein ganz neues Licht auf unsere Extraktionsversuche und auf die Rolle, die das Lecithin dabei zu spielen hat, werfen muß. Denn, vergegenwärtigen wir uns, daß bei allen unseren Extraktionsversuchen, die mit Chloroform allein, ohne Lecithinzusatz angestellt wurden, negative Resultate zu verzeichnen waren und halten wir diese Befunde mit der oben festgestellten antigenzerstörenden Wirkung des Chloroforms zusammen, so drängt sich uns von selbst die Anschauung auf, daß das Lecithin offenbar imstande sein muß, eine gewisse Schutzwirkung zu entfalten und das in das Chloroform über-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegangene Antigen vor seiner Zerstörung zu bewahren.

Von diesem Gesichtspunkte aus wäre es also ganz gut denkbar, daß zwar auch bei der Extraktion mit Chloroform allein Antigen in dasselbe übergetreten wäre, daß dasselbe aber infolge der mangelnden Schutzwirkung des Lecithins zerstört und daher dem Nachweis entzogen wurde. Wir hätten dann also zwar keine lösungsbefördernde, wohl aber eine schützende Wirkung des Lecithins anzunehmen. Welcher Art diese sein dürfte, ist natürlich nicht leicht zu sagen, wenn es auch begreiflicherweise nahe liegt, an Umhüllungswirkungen zu denken, wie sie ja bei den „Schutzkolloiden" angenommen werden.

Zusammenfassung.

1) Lecithinbakterien zeigten keine größere Avidität zu dem Agglutinin als gewöhnliche Bakterien.

2) Durch Einwirkung alter Lecithinpräparate auf Typhusbacillen und nachfolgende Extraktion mit Chloroform war es möglich, sehr geringe Antigenmengen in Lösung zu bringen, die sowohl durch ihre antigenetische wie durch ihre agglutininbindende Wirkung nachzuweisen waren.

3) Frisch von Merck bezogenes Lecithin war dagegen unwirksam und ließ kein Antigen in das Chloroform übertreten.

4) Es genügte eine nur wenige Minuten andauernde Einwirkung der alten Lecithinpräparate, um die maximale Antigenmenge in das Chloroform überzuführen.

5) Wurde die bereits einmal extrahierte Bakterienaufschwemmung neuerdings mit Lecithin versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt, so ging wieder Antigen, und zwar in ungefähr gleicher Menge wie das erste Mal, in Chloroform über. Ganz ebenso auch bei einer dritten Extraktion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6) Wurde jedoch zu der zweiten und dritten Extraktion nur Chloroform allein, ohne Lecithin, benutzt, so war kein Antigen in dem Extrakt nachzuweisen.

7) Wurde das antigenhaltige Lecithin in wenig Alkohol gelöst und mit Wasser versetzt, so blieb das Antigen in Lösung, während das Lecithin fast vollkommen ausflockte.

8) Chloroform übt eine zerstörende Wirkung auf das in wässeriger Lösung befindliche Antigen aus.

9) Die geschilderten Extraktionsverhältnisse finden ihre Erklärung entweder darin, daß das Lecithin die Chloroformlöslichkeit des Antigens vermittelt, oder, was viel wahrscheinlicher ist, darin, daß es das Antigen vor der Zerstörung durch das Chloroform zu schützen vermag.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann).]

Experimentelle Beiträge zur Biologie der Dysenteriebacillen.

Von Dr. **Tamie Amako** (aus Kobe in Japan).

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. März 1910.)

Zweck der nachstehend mitgeteilten Untersuchungen war, mich durch Fortzüchtung der Bakterien in Immunserum über die Aenderung ihrer Komplementbindungsfähigkeit — Verminderung oder Vermehrung der mit passenden Ambozeptoren im spezifischen Immunserum bindungsfähigen Bakterienrezeptoren — zu unterrichten.

Ransom und Kitashima (1) hatten bereits gefunden, daß Choleravibrionen durch Fortzüchtung im Immunserum hypagglutinierbar werden, ohne daß eine andere Veränderung an den Kulturen zu bemerken war; Walker (2) hatte bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Typhusbacillen durch Kultivierung im Immunserum eine Abnahme der Agglutinabilität festgestellt. Diese Tatsache wurde sofort durch Müller (3) und Kirstein (4) bestätigt. Nur Tarchetti (5) sah eine Zunahme der Agglutinabilität der Bakterien bei der Kultur auf agglutininhaltigem Nährboden.

Zu meinen Versuchen wurden hauptsächlich Dysenteriebacillen Typus I, II und V (7 und 8) verwendet. Typus I gehört zum Shigaschen Originalstamme, Typus II zum Bacillus Y und Typus V zum Flexnerschen Bacillus. Die Immunsera wurden durch Entbluten von durch intravenöse Injektion mit Bakterien immunisierten Kaninchen ganz frisch und steril gewonnen. Das Serum wurde im Verhältnis von 1 : 1 mit gewöhnlicher Bouillon gemischt. Die Mischung wurde zu je 1 ccm in sterilisierte Reagenzgläser verteilt. Dann wurden alle Röhrchen je 1 Stunde täglich in einem Schranke von 60° an 3 Tagen erwärmt, um dadurch das Serum zu inaktivieren und die Flüssigkeit zu sterilisieren.

In der so erhaltenen Serumbouillon wurden die oben genannten Dysenteriebacillen jeden zweiten Tag fortgezüchtet. Von den auf diese Weise gewonnenen verschiedenen Generationen derselben wurden Uebertragungen auf gewöhnlichen Agar vorgenommen und von hier aus wurde die Prüfung auf ihre Komplementbindungsfähigkeit angestellt. Zum Vergleiche wurden die Versuche auch mit in Normalserumbouillon (1 : 1), welche ebenso wie die oben beschriebene Immunserumbouillon hergestellt wurde, und ebenso mit in gewöhnlicher Bouillon weitergezüchteten Stämmen ausgeführt.

Die für die Komplementbindung als Antigen verwendeten Bakterienextrakte wurden nach Leuchs (7) hergestellt. Gleichzeitig wurde die Komplementbindung auch mit Bakteriensuspensionen (Mischung aus 1 Oese von der Agarkultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung) als Antigen ausgeführt.

Der Extrakt bezw. die Suspension wurden auf ihre Komplementbindungsfähigkeit mit Hilfe eines inaktivierten Immunserums, welches von Kaninchen stammte, geprüft, indem zu gleichen Mengen des Serums (die Hälfte derjenigen Menge, welche für sich allein keine Hemmung mehr bewirkte) fallende Mengen des Extraktes bezw. der Suspension von Bakterien zugesetzt wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Komplementbindungsversuch mit einer 30. Generation in Serumbouillon (1 : 1) fortgezüchteter Dysenteriebacillen Typus I und einem Kaninchen-Immunserum von Typus I.

Menge des Serums	Menge des Bakterien-extraktes	Resultat			
		In Immun-serum-bouillon fort-gezüchteter Stamm	In Normal-serum-bouillon fort-gezüchteter Stamm	In gewöhn-licher Bouillon fort-gezüchteter Stamm	In Agar fort-gezüchteter Stamm
0,1	0,1	—	—	+	+
0,1	0,05	—	—	+	+
0,1	0,02	—	—	+	+
0,1	0,01	—	—	+	+
0,1	0,005	—	—	±	±
0,1	0,002	—	—	—	—
0	0,2	—	—	—	—
0	0,1	—	—	—	—
0,2	0	komplett gelöst			
0,1	0	„ „			

Zeichenerklärung: + komplette Hemmung, ± inkomplette Hemmung, — keine Hemmung.

Tabelle II.

Komplementbindungsversuch mit einer 30. Generation in Serumbouillon (1 : 1) fortgezüchteter Dysenteriebacillen Typus II und einem Kaninchen-Immunserum von Dysenteriebacillen Typus II.

Menge des Serums	Menge des Bakterien-extraktes	Resultat			
		In Immun-serum-bouillon fort-gezüchteter Stamm	In Normal-serum-bouillon fort-gezüchteter Stamm	In gewöhn-licher Bouillon fort-gezüchteter Stamm	In gewöhn-lichem Agar fort-gezüchteter Stamm
0,1	0,1	—	—	+	+
0,1	0,05	—	—	+	+
0,1	0,02	—	—	+	+
0,1	0,01	—	—	±	±
0,1	0,005	—	—	—	—
0,1	0,002	—	—	—	—
0	0,2	—	—	—	—
0	0,1	—	—	—	—
0,2	0	komplett gelöst			
0,1	0	„ „			

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Komplementbindungsversuch mit einer 30. Generation in Serumbouillon (1 : 1) fortgezüchteter Dysenteriebacillen Typus V und einem Kaninchen-Immunserum von Dysenteriebacillen Typus V.

Menge des Serums	Menge des Bakterien-extraktes	Resultat			
		In Immun-serum-bouillon fort-gezüchteter Stamm	In Normal-serum bouillon fort-gezüchteter Stamm	In gewöhn-licher Bouillon fort-gezüchteter Stamm	In gewöhn-lichem Agar fort-gezüchteter Stamm
0,1	0,1	—	—	+	+
0,1	0,05	—	—	+	+
0,1	0,02	—	—	+	+
0,1	0,01	—	—	±	±
0,1	0,005	—	—	—	
0,1	0,002	—	—	—	
0	0,2	—	—	—	—
0	0,1	—	—	—	—
0,2	0	komplett gelöst			
0,1	0	„ „			

Wie aus den Tabellen I bis III zu ersehen ist, sind die Ergebnisse dieser Versuche vollkommen klar und eindeutig: nicht nur die in Immunserumbouillon fortgezüchteten, sondern auch ebenso die in Normalserumbouillon fortgezüchteten Stämme zeigen gar keine Komplementbindungsfähigkeit, während die in gewöhnlicher Bouillon und Agar fortgezüchteten Stämme eine starke Komplementbindungsfähigkeit besitzen. Die Versuche mit Bakteriensuspensionen haben dasselbe Resultat gehabt.

Um die Bindungsfähigkeit der obengenannten Stämme noch eingehender zu prüfen, wurde ein Absorptionsversuch mit verschiedenen, in Serumbouillon fortgezüchteten Stämmen und dem homologen Immunserum ausgeführt. Zum Versuche setzte ich zu je 1 ccm Verdünnung des Immunserums 1 : 10 5 Oesen von einer 24-stündigen Kultur zu. Nach 2-stündiger Aufbewahrung dieser Mischungen bei 37 ° im Brutschrank wurden sie zentrifugiert, und die so erhaltene klare Flüssigkeit wurde mit einem Extrakt von einem auf Agar fortgezüchteten Stamme auf ihre Komplementbindungskraft geprüft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Absorptionsversuch mit Immunserum von Dysenteriebacillus Typus II und verschiedenen Stämmen desselben Bacillus.

Menge des Zentrifugats	Extrakt eines auf Agar fortgezüchteten Stammes	Resultat Zentrifugat einer Mischung von Serum mit einem			Kontrolle: Immunserum Typus II (1 : 10)
		in Immunserumbouillon fortgezüchteten Stamm	in Normalserumbouillon fortgezüchteten Stamm	in gewöhnlichem Nährboden fortgezüchteten Stamm	
1,0	0,1	+	+	—	+
0,5	0,1	+	+	—	+
0,2	0,1	+	+	—	+
0,1	0,1	±	±	—	+
0,05	0,1	—	—	—	±
0,02	0,1	—	—	—	—
0	0,2	—	—	—	—
0	0,2	—	—	—	—
1,0	0	komplett gelöst			

Wie diese Tabelle zeigt, war die Komplementbindungsfähigkeit des mit den Serumstämmen vorbehandelten Serums fast vollkommen erhalten geblieben, während das mit den Agar- bezw. Bouillonstämmen vorbehandelte Serum Komplement nicht mehr fixierte.

Es muß demnach durch die Fortzüchtung der Bakterien in Serumbouillon die Avidität der zu den freien Ambozeptoren passenden Rezeptoren stark vermindert worden sein. Dieser Vorgang muß auf die durch viele Generationen fortdauernde Wirkung der Ambozeptoren gegen die Bakterienrezeptoren zurückgeführt werden. Es ist wahrscheinlich, daß die Normalambozeptoren des Normalserums in derselben Weise auf die Bakterienrezeptoren wirken können. Diese Wirkung des Normalserums tritt nur in starker Konzentration ein, während das Immunserum schon bei schwacher Konzentration einen deutlichen Einfluß ausübt. Diese Beziehungen kann man aus Tabelle V erkennen (siehe p. 615).

Zum Vergleiche wurden die oben beschriebenen Stämme auf ihre Agglutinabilität geprüft. Das Resultat des Versuches zeigte vollkommene Uebereinstimmung mit demjenigen des Komplementbindungsversuches: nicht nur die in Immunserumbouillon fortgezüchteten Stämme, sondern auch die in Normalserumbouillon fortgezüchteten hatten ihre Agglutinabilität ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Komplementbindungsversuch mit Immunserum von Dysenteriebacillus Typus II und den in verschiedenen Konzentrationen von Serumbouillon fortgezüchteten Stämmen desselben Typus (20. Generation).

Menge des Serums	Menge des Extraktes	Konzentration der Serumbouillon, in welcher die Bakterien fortgezüchtet sind										Kontrolle: In gewöhnlicher Bouillon fortgezüchteter Stamm
		Immunserumbouillon					Normalserumbouillon					
		1:1	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1	1:10	1:50	1:100	1:500	
0,1	0,1	—	—	±	+	+	—	+	+	+	+	+
0,1	0,05	—	—	±	+	+	—	+	+	+	+	+
0,1	0,02	—	—	—	±	+	—	±	+	+	+	+
0,1	0,01	—	—	—	—	+	—	±	±	+	+	+
0,1	0,005	—	—	—	—	±	—	—	±	±	±	±
0,1	0,002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,2	0	komplett gelöst										
0,1	0	„ „										

loren. Der Einfluß des Normalserums auf die Agglutinabilität der Bakterien, welcher auf die Wirkung des Normalagglutinins zurückgeführt werden muß, beschränkt sich auf starke Konzentration, während beim Immunserum schon bei der 20. Generation in einer Konzentration von 1:50 eine starke Beeinflussung der Agglutinabilität erkennbar ist (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Agglutinationsversuch mit in verschiedenen Konzentrationen von Immunserum- und Normalserumbouillon fortgezüchteten Stämmen von Dysenteriebacillus Typus II (20. Generation).

Verdünnung des Serums	Konzentration der Serumbouillon, in welcher die Bakterien fortgezüchtet sind										Kontrolle: In gewöhnlicher Bouillon fortgezüchteter Stamm
	Immunserumbouillon					Normalserumbouillon					
	1:1	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1	1:10	1:50	1:100	1:500	
1:20	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+
1:50	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+
1:100	—	—	±	+	+	—	+	+	+	+	+
1:200	—	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
1:400	—	—	—	+	±	—	+	+	+	+	+
1:800	—	—	—	—	±	—	±	+	+	+	+
1:1600	—	—	—	—	—	—	±	±	±	+	+
1:3000	—	—	—	—	—	—	±	±	±	±	±
1:6400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Absorptionsversuch, welcher in oben beschriebener Weise mit homogenem Immunserum einerseits mit in Serumbouillon fortgezüchteten inagglutinablen Stämmen, andererseits mit in gewöhnlicher Bouillon und auf Agar fortgezüchteten agglutinablen Stämmen angestellt wurde, hat ebenfalls eine herabgesetzte Bindungsfähigkeit der ersteren Stämme erwiesen. Zu demselben Resultat war schon Müller (3) gelangt.

Derartige Stämme wurden auch auf ihr Verhalten gegenüber der bakteriolytischen Kraft des spezifischen Immunserums geprüft. Das Ergebnis des Versuches zeigte ganz übereinstimmend mit dem Komplementbindungs- und Agglutinationsversuche, daß die in Serumbouillon fortgezüchteten Stämme von dem Immunserum desselben Typus nicht merkbar beeinflußt wurden, während die in gewöhnlicher Bouillon und Agar fortgezüchteten Stämme selbst von kleinen Mengen desselben Serums aufgelöst wurden.

Wie lange die durch die Fortzüchtung in Serumbouillon erzielte neue Bakterienrasse ihre besonderen Eigenschaften bei Weiterzüchtung auf gewöhnlichen Nährböden behält, geben die Autoren nicht an. Nur Kirstein (4) sah, daß sie nach fünfmaliger Ueberimpfung ihre normale Agglutinabilität wieder erlangt hatten. Um diese Frage zu untersuchen, habe ich jeden zweiten Tag 6 in Serumbouillon fortgezüchtete und dadurch stark veränderte Stämme (Tabelle I bis III) auf Agar weitergezüchtet. Erst nach 20maliger Ueberimpfung hatten sich bei einem Immunserumstamm des Typus V (Tabelle III) Agglutinabilität und Komplementbindungsfähigkeit wieder eingestellt. Die Agglutinierbarkeit war aber hinter der des Originalstammes zurückgeblieben. Die übrigen 5 Stämme hatten keine nennenswerte Komplementbindungs- und Agglutinationsfähigkeit wiedergewonnen.

Es war nun notwendig zu untersuchen, ob bei Vorbehandlung von Tieren mit den Bakterien, deren Agglutinationsverhalten verändert ist, noch spezifisches antikörperhaltiges Serum zu erhalten ist. Das war von vornherein zu erwarten, da bei Pyocyaneus und Typhus ähnliches bereits von Wassermann sowie von Friedberger, Friedberger und Moreschi beobachtet worden war.

In der Tat konnte ich auch mit meinen Serumstämmen die Entwicklung spezifischer Antikörper in vivo noch nachweisen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Erzielung von spezifisch antigenhaltigem Serum mittels in Immunserumbouillon fortgezüchteten Stämmen von Dysenteriebacillus Typus V.

3. I. 1910. Ein in Immunserumbouillon fortgezüchteter Stamm von Dysenteriebacillus Typus V (s. Tabelle I) intravenös. 12. I. entblutet und geprüft.

Menge des Serums	Extrakt der Bakterien	Zur Immunisierung benutzter Stamm	Auf Agar fortgezüchteter Stamm
0,2	0,1	—	+
0,1	0,1	—	+
0,05	0,1	—	+
0,02	0,1	—	±
0,01	0,1	—	—
0,005	0,1	—	—
0	0,2	—	—
0	0,1	—	—
0,3	0	komplett gelöst	

Aus Tabelle VII ersieht man, daß das durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit einem Serumstamme erzielte Serum gegen einen Agarstamm starke Komplementbindungsfähigkeit zeigt, während dasselbe gegen den zur Immunisierung benutzten Serumstamm keine Wirkung ausübt. Der Agglutinationsversuch mit demselben Serum stimmte mit diesem Versuch vollkommen überein: Der Serumstamm wurde selbst in der Verdünnung 1:20 nicht agglutiniert, dagegen der auf Agar fortgezüchtete Stamm in der Verdünnung 1:200 vollständig. Mit den anderen 5 in Serumbouillon fortgezüchteten Stämmen (Tabelle I bis III) wurden in gleicher Weise wirksame Sera gewonnen.

Zusammenfassung.

1) Durch Fortzüchtung in inaktivem Immunserum verlieren die Dysenteriebacillen ihre Komplementbindungsfähigkeit. Dieser Vorgang muß wohl auf die Verminderung der Avidität der Bakterienrezeptoren in vitro zurückgeführt werden, welche durch die viele Generationen fortdauernde Wirkung der Ambozeptoren verursacht ist.

2) Bei Benutzung einer starken Konzentration kann inaktives Normalserum in derselben Weise Verminderung der Avidität der Bakterienrezeptoren verursachen, die in analogem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sinne auf die Wirkung der normalen Ambozeptoren zurückgeführt werden muß.

3) Durch Vorbehandlung mit einem derartigen Stamme kann man sehr leicht ein spezifisches antikörperhaltiges Serum erhalten, welches nur auf einen originalen, in gewöhnlichem Nährboden fortgezüchteten Stamm stark wirkt, nicht aber auf den in Serumbouillon fortgezüchteten Stamm, der zur Vorbehandlung des Tieres benutzt wurde. Diese Tatsache läßt sich nur durch die Annahme erklären, daß durch die Einwirkung des Serums die Bakterienrezeptoren in dem Sinne verändert werden, daß sie in vitro ihre Avidität für die Antistoffe verloren haben, während die Avidität in vivo noch in Erscheinung tritt.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann für die liebenswürdige Anregung zu dieser Arbeit und Herrn Dr. Leuchs für seine freundliche Unterstützung bei derselben meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Nachtrag.

Kürzlich ist eine Arbeit von Sobernheim und Seligmann (9) erschienen, in welcher mitgeteilt wurde, daß in bestimmten Fällen Agglutinabilität in vitro und Agglutininbildung in vivo nicht parallel gehen. Es scheint demnach, daß ähnliche Vorgänge, wie die in der vorstehenden Arbeit beschriebenen, auch in der Natur spontan vorkommen können.

Literatur.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1898.
2) Journ. of Path. and Bact., 1902.
3) Münch. med. Wochenschr., 1903.
4) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46.
5) Clin. med. ital., 1898.
6) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 60.
7) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 60.
8) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 60.
9) Deutsche med. Wochenschr., 1910, No. 8.

Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geheimrat Prof. Proskauer).]

Beitrag zur Frage der Bakterienanaphylaxie.

Von Prof. **G. Sobernheim.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. März 1910.)

Die Anaphylaxie steht für die Immunitätsforschung augenblicklich im Vordergrund des Interesses. Dabei ist es vornehmlich die theoretisch-wissenschaftliche Seite der Frage, welche die Laboratorien beschäftigt; in zahlreichen Arbeiten hat man sich bemüht, dieses eigenartige Phänomen nach seinem Wesen und seinen Beziehungen zu anderen bekannten biologischen Reaktionen näher zu ergründen. Die praktische Bedeutung wurde weniger beachtet. Beobachtungen über das Auftreten anaphylaktischer Erscheinungen außerhalb des Laboratoriumsexperiments, also gewissermaßen unter natürlichen Verhältnissen, bildeten den Ausgangspunkt der im folgenden kurz zu berichtenden Versuche.

Schon früher habe ich wiederholt[1]) erwähnt, daß Tiere, namentlich Rinder, welche der Simultanimpfung gegen Milzbrand unterworfen werden, mitunter ganz plötzlich und fast in unmittelbarem Anschluß an die Injektion mit sehr eigenartigen, stürmischen Erscheinungen reagieren. Diese letzteren sind wesentlich charakterisiert durch ödematöse Anschwellung der Schleimhäute und der Augenlider, Ausfluß aus Maul und Nase, besondere Empfindlichkeit der Haut und starke allgemeine Unruhe. Nach kurzer Zeit, gewöhnlich schon nach $^1/_2$—1 Stunde, pflegen die Erscheinungen, die zunächst einen bedrohlichen Eindruck machen können, zu schwinden. Offenbar handelt es sich dabei um eine von dem fremdartigen Serum-

1) Deutsche med. Wochenschr., 1904; Handbuch von Kraus und Levaditi, Bd. 2, 1909.

Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

eiweiß ausgehende Wirkung, also bei Rindern um eine Reaktion auf das Pferde- bezw. Schafserum, wie es in dem zu Simultanimpfungen verwendeten Milzbrand-Mischserum enthalten ist. Anders wenigstens konnten derartige Zwischenfälle kaum gedeutet werden, die somit nur ein weiteres Beispiel für die auch sonst beobachtete Serumempfindlichkeit einzelner Individuen boten.

Die Fälle waren immerhin selten. Unter vielen Tausenden von Impfungen wurden nur wenige beobachtet, die überdies, soweit mir bekannt, ausnahmslos günstig verliefen. Im Laufe der letzten beiden Jahre schienen jedoch derartige Reaktionen etwas häufiger aufzutreten, auch wurde alsdann meist von besonders schweren Erscheinungen berichtet. In einzelnen Beständen ereigneten sich sogar Todesfälle, wenn auch nur ganz ausnahmsweise und in verschwindender Zahl. Bei genauerer Nachforschung ergab sich nun die interessante Tatsache, daß diese heftigen Impfreaktionen, wenigstens bei uns in Deutschland, neuerdings fast ausschließlich solche Tiere betrafen, die bereits früher einmal, und zwar gewöhnlich vor $^1/_2$—1 Jahr, der Simultanimpfung unterworfen worden waren. Es war höchst auffallend, daß gerade in denjenigen Beständen, welche die erste Impfung reaktionslos und ohne Nebenerscheinungen überstanden hatten, bei einer späteren Wiederholung Krankheitserscheinungen der erwähnten Art sich einstellten. Offenbar handelt es sich hier um ein Beispiel von Serumanaphylaxie, wie es in dieser Form unter praktischen Verhältnissen noch nicht häufig beobachtet sein dürfte. Höchstens wäre die Ueberempfindlichkeit, die anscheinend auch bei der Serumtherapie der Diphtherie gegenüber wiederholten Injektionen zutage treten kann, als Analogon zu nennen. Herr Hofrat Hutyra hatte die Güte, mich darauf aufmerksam zu machen, daß in letzter Zeit an einigen Stellen in Ungarn gleichfalls nach Milzbrandserum-Impfungen anaphylaktische Symptome beobachtet worden sind[1]). Die Erkrankungen betrafen dort Pferde und Rinder und ereigneten

1) Kovárzik, Állatorvosi Lapok, p. 147 und 563. — Zinner, ebendaselbst.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sich sowohl nach Anwendung des Serums des Jenner-Pasteur-Instituts in Budapest als auch bei Benutzung des Merckschen Serums. Das Jenner-Pasteur-Institut liefert ein von Pferden stammendes Milzbrandserum, das Mercksche Serum stellt, wie erwähnt, ein Mischserum dar. In Deutschland sind mir übrigens Erkrankungen lediglich bei Rindern bekannt geworden.

Daß die geschilderten Erscheinungen nicht etwa als Milzbrandinfektion zu deuten sind, ist sicher. Art und Verlauf der Erkrankung spricht gegen eine solche Auffassung, ebenso der Sektionsbefund, wenn es zum Tode der Tiere kam; auch haben sich in einigen Fällen genau die gleichen Symptome bei reiner Serumimmunisierung, also ohne kulturelle Simultaninjektion, eingestellt. Es kann demnach kaum einem Zweifel unterliegen, daß die Impfreaktionen in das Gebiet der „Serumkrankheit", speziell der anaphylaktisch gesteigerten Empfindlichkeit gehören. Für Rinder ist, wie die in Ungarn mit dem Serum des Jenner-Pasteur-Instituts gemachten Erfahrungen beweisen, namentlich das Pferdeserum bedenklich, für Pferde, nach den Beobachtungen mit dem Merckschen Milzbrandserum, offenbar Rinder- und Schafserum. Welche der beiden letztgenannten Serumarten in dieser Hinsicht von größerer Bedeutung ist, und ob vielleicht auch das Schafserum bei Pferden zur Auslösung anaphylaktischer Symptome geeignet ist, ergibt sich aus dem vorliegenden Beobachtungsmaterial nicht mit völliger Sicherheit. Jedenfalls wurde aus allen diesen Vorkommnissen zunächst die praktische Schlußfolgerung gezogen, für die Zwecke der Serumtherapie und Simultanimpfung bei Milzbrand nur noch ungemischte Sera, und zwar stets das der Tierart homologe zu verwenden. Dementsprechend wird das Mercksche Milzbrandserum seit etwa einem halben Jahre für Rinder, Schafe und Pferde, die fast ausschließlich in Betracht kommenden Tierarten, in der Form eines reinen Rinder-, bezw. Schaf- und Pferdeserums abgegeben. Es ist, wie mir berichtet wird, in dieser Zeit von ähnlichen Zwischenfällen nichts wieder bekannt geworden. Es bleibt abzuwarten, ob dieses Resultat ein endgültiges ist. Sollte dies der Fall sein, so wäre damit der Beweis unwider-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

leglich erbracht, daß das heterologe Serum an den früheren Impfschädigungen die Schuld trug[1]).

Die ganze Frage bot mir aber Anlaß zu weiteren, in diesem Falle freilich mehr theoretischen Betrachtungen. Da man experimentell unter gewissen Bedingungen auch eine Bakterienanaphylaxie erzeugen kann, und speziell für den Milzbrand Rosenau und Anderson[2]) dies behaupten, so war von vornherein an die Möglichkeit zu denken, daß die nach wiederholter Simultanimpfung bisweilen auftretenden anaphylaktischen Symptome nicht durch das fremdartige Serum, sondern durch das Bakterieneiweiß ausgelöst würden. Eine genauere Ueberlegung zeigte indessen, daß ein derartiger Zusammenhang zum mindesten sehr unwahrscheinlich war. Einmal waren die Erscheinungen eben auch bei erstmaliger Impfung, sowie bei reiner Serumanwendung (ohne Kultur) aufgetreten, sodann aber hätten sich in den beinahe 30 Jahren, die seit Einführung des Pasteurschen Verfahrens vergangen sind, Zeichen von Bakterienanaphylaxie beim Milzbrand des öfteren bemerkbar machen müssen. Immerhin war es nicht ganz von der Hand zu weisen, daß die verimpften Kulturen, zumal in der Kombination mit spezifischem Serum, vielleicht doch in manchen Fällen an der Entstehung der anaphylaktischen Symptome beteiligt waren. Bemerkenswert ist wenigstens, daß in verschiedenen Berichten von den Tierärzten hervorgehoben wurde, daß namentlich solche Tiere nach der Impfung erkrankten, die vorher einer Infektionsgefahr, z. B. in der unmittelbaren Nachbarschaft eines an Milzbrand gefallenen Tieres, besonders stark ausgesetzt waren.

Das experimentelle Studium der Milzbrandanaphylaxie schien mir daher nicht ohne Interesse zu sein, um so mehr, als sich bisher nur die oben erwähnten Autoren mit dieser Frage beschäftigt haben. Rosenau und Anderson ver-

---

1) In diesen Tagen erhielt ich Kenntnis von schweren anaphylaktischen Erscheinungen beim Menschen nach Anwendung von Milzbrandserum (Hammelserum), wie sie bisher noch nicht beobachtet sein dürften. Der Fall wird von anderer Seite veröffentlicht werden.

2) Treasury Department, Hygienic Laboratory, Bulletin No. 36, Washington 1907.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wendeten für ihre Versuche Bakterienextrakte, die nach besonderem Verfahren bereitet wurden.

Die Herstellung der Extrakte erfolgte in der Weise, daß der Rasen 4-tägiger Agarplatten durch wiederholtes Gefrieren und Auftauen, Verreiben mit Sand und kräftiges Schütteln zunächst aufgeschlossen, alsdann in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und diese Flüssigkeit nun durch Berkefeldfilter filtriert wurde. Diese Methode, welche die Autoren nicht nur für Milzbrandbakterien, sondern ganz allgemein für die von ihnen studierten Arten angeben, lieferte klare Extraktlösungen. Beim Erwärmen und Zusatz von Essigsäure trat ein deutlicher Niederschlag auf. Der anaphylaktische Versuch wurde an Meerschweinchen vorgenommen. Die Tiere erhielten Extraktmengen von 0,005—10 ccm subkutan und 3 Wochen später 6 ccm Extrakt, gleichfalls subkutan. Die vorbereitende Dosis war für den Erfolg anscheinend ohne erhebliche Bedeutung, dagegen ergibt sich aus der tabellarischen Zusammenstellung, daß einmalige Vorbehandlung sicherer zum Ziele führte, als mehrfach wiederholte Injektionen (1 Woche hindurch täglich). Freilich sind die Resultate überhaupt keine ganz einheitlichen, indem von 15 Versuchstieren nur 2 etwas stärkere („marked", „severe") Erscheinungen darboten, 10 schwache und unbedeutende („mild", „slight") Symptome zeigten und 3 gar nicht reagierten. Die Erscheinungen bestanden in kratzender, beschleunigter Atmung; die Tiere fielen häufig auf die Seite und sahen krank aus; kein Husten, keine Krämpfe. Sämtliche Tiere blieben am Leben.

Methodik und Versuchsergebnisse der beiden amerikanischen Forscher habe ich absichtlich etwas ausführlicher wiedergegeben, weil meine eigenen Versuche, deren Anordnung eine ganz analoge war, zu abweichenden Resultaten geführt haben.

Die Extraktbereitung nahm ich in verschiedener Weise vor. Extrakt I und III wurden durch Schütteln lebender bezw. abgetöteter Milzbrandkulturen mit Kochsalzlösung bezw. Wasser gewonnen, Extrakt II stellte eine durch Antiformin bewirkte Lösung der Bakterien dar. In jedem Falle diente ein virulenter Milzbrandstamm als Ausgangsmaterial. Im einzelnen gestaltete sich die Herstellung folgendermaßen.

Extrakt I. Eine Anzahl von Massenkulturen (in Kolleschen Flachkolben) werden 24 Stunden bei 37° gehalten. Abschwemmung des Bakterienrasens mit je 10 ccm Kochsalzlösung, Zusatz von 0,5-proz. Karbolsäure. Die Flüssigkeit wird hierauf für 24 Stunden in den Schüttelapparat gebracht und durch Berkefeldkerzen filtriert.

Extrakt II. Mehrere Massenkulturen werden mit je 10 ccm Aq. dest. abgeschwemmt, die Gesamtflüssigkeit hierauf mit dem gleichen Quantum einer 20-proz. Antiforminlösung vermischt und, gemäß der Empfehlung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Altmann und Schultz[1]), 1 Stunde im Wasserbad bei 45° gehalten. Der größte Teil der Bakterienmasse geht hierbei in Lösung. Wie die mikroskopische Untersuchung zeigt, sind auch die Sporen vollkommen gelöst. Von dem geringen ungelösten flockigen Rückstand wird die klare, nur leicht opaleszierende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt. Neutralisierung mit 10-proz. Schwefelsäure; wogegen ein Zusatz von Natriumsulfit zur Beseitigung des Chlors sich nicht als nötig erweist, da Chlor nicht mehr nachweisbar (Jodkaliumstärkepapier).

Extrakt III. Eine größere Zahl von Massenkulturen werden mit Chloroform versetzt und 48 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, wobei das Chloroform verdunstet. Der Rasen wird alsdann mit wenig 0,5-proz. Karbolsäure abgeschwemmt, im Mörser mit Seesand gründlich verrieben und nun mit weiteren Mengen von 0,5-proz. Karbolsäure versetzt, so daß im ganzen auf jede Kultur 10 ccm Flüssigkeit verwendet werden. 24 Stunden im Schüttelapparat, Zentrifugieren, Filtrieren durch Berkefeldkerzen.

Extrakt I und III stellen kristallklare gelbe Lösungen dar, Extrakt II zeigt leichte Opaleszenz. Die Kochprobe fällt mit allen Extrakten negativ aus, auf Essigsäurezusatz tritt ganz leichte Trübung auf.

Die eigentlichen Anaphylaxieversuche wurden an Meerschweinchen angestellt. Zur Vorbehandlung wurden bei den meisten Tieren die eben beschriebenen Milzbrandextrakte benutzt, und zwar in Dosen von 0,01—5,0 ccm, bei durchweg subkutaner Einverleibung; nur 1 Tier wurde intraperitoneal vorbehandelt. Außerdem erhielten einige Meerschweinchen statt der Extrakte eine präparierende Injektion von lebender Milzbrandkultur und Milzbrandserum. Als Kultur wurde ein abgeschwächter Stamm benutzt, als Serum ein Mischserum von Pferd, Schaf und Rind, die Einspritzung erfolgte gleichzeitig, aber örtlich getrennt, für beide Stoffe subkutan. Im Hinblick auf die von Rosenau und Anderson gemachten Erfahrungen nahm ich von einer längeren bezw. wiederholten Vorbehandlung der Tiere Abstand. Nach 3—4 Wochen wurde die Prüfung auf Anaphylaxie vorgenommen, teils mittels intravenöser, teils mittels intraperitonealer Injektion. Hierzu dienten die Extrakte I, II und III. Ueber alle näheren Einzelheiten gibt die beifolgende tabellarische Zusammenstellung Auskunft.

1) Diese Zeitschrift, Bd. 3, p. 98.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Anaphylaxieprüfung.

Meerschw. No.	Gewicht in g	Vorbehandlung			Zeit intervall (Tage)	Prüfung			Erfolg
		Extrakt	Dosis	Injektion		Extrakt	Dosis	Injektion	
1	370	I	5 ccm	intrap.	25	I	5 ccm	intrap.	nach einigen Min. geringes Zittern u. hin und wieder Zuckungen, sonst völlig normal
2	370	I	5 „	subk.	25	I	6 „	„	dgl.
3	350	I	0,5 „	„	21	I	5 „	„	„
4	450	I	0,5 „	„	21	I	6 „	„	„
5	420	I	0,1 „	„	26	III	2,2 „	intrav.	„
6	600	I	0,1 „	„	26	III	2,2 „	„	„
7	400	II	0,5 „	„	21	II	2 „	„	„
8	370	II	0,5 „	„	22	II	7 „	intrap.	nach ca. 3 Min. heftige Zuckung. des ganzen Körpers, die einige Zeit andauern, allmählich nachlassen. Nach 1 Std. Tier wieder gesund
9	570	II	0,1 „	„	21	II	2,2 „	intrav.	vorübergehend geringes Zittern. Einzelne Kratzbewegungen. Nach 15 Min. Tier völlig normal
10	630	II	0,1 „	„	22	II	7 „	intrap.	starkes Zittern des ganzen Körpers, hin und wieder Zuckungen. Nach 20 Min. Tier völlig munter
11	520	II	0,05 „	„	21	II	2 „	intrav.	heftige, sich häufig wiederh. Zuckung. kurz nach der Injektion. Nach 10 Minuten völlig normal
12	470	II	0,05 „	„	22	II	7 „	intrap.	vorübergehend Zittern und Zucken d. Körpers. Nach ca. 20 Min. völlig normal
13	300	II	0,01 „	„	21	II	2 „	intrav.	anfänglich geringes Zittern, sonst ganz normal

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschw. No.	Gewicht in g	Vorbehandlung			Zeit intervall (Tage)	Prüfung			Erfolg
		Extrakt	Dosis	Injektion		Extrakt	Dosis	Injektion	
14	400	II	0,01 ccm	subk.	22	II	7 ccm	intrap.	heftige krampfart. Zuckung. d. ganz. Körp., lähmungsart. Schwäche der Hinterfüße. Nach $^1/_2$Std. völl. munter
15	390	III	0,5 „	„	25	III	0,8 „	intrav.	keine Erscheinung.
16	370	III	0,5 „	„	24	III	6 „	intrap.	dgl.
17	420	III	0,25 „	„	25	III	1 „	intrav.	vorübergehend geringes Zittern
18	390	III	0,25 „	„	24	III	6 „	intrap.	keine Erscheinung.
19	380	III	0,1 „	„	26	III	1,5 „	intrav.	dgl.
20	370	III	0,1 „	„	24	III	6 „	intrap.	leichtes Zittern, hin u. wieder Zucken; nach kurzer Zeit völlig normal
21	300	III	0,05 „	„	26	III	1,5 „	intrav.	dgl.
22	300	III	0,05 „	„	24	III	6 „	intrap.	„
23	380	III	0,01 „	„	26	III	2,25 „	intrav.	„
24	400	III	0,01 „	„	24	III	6 „	intrap.	„
25	350	Milzbrandkultur abgeschwächt + Milzbrandser.	1 Oese 1,5 ccm	subk. (getrennt)	26	II [1])	2,2 „	intrav.	2 Min. nach der Injektion. Zittern u. Zuckungen des ganzen Körpers. Kratzbewegungen und Schnuppern. Tier bald wieder normal
26	520	Milzbrandkultur abgeschwächt + Milzbrandser.	1 Oese 1,5 ccm	„	22	II [1])	2,3 „	„	schwaches Zittern. Vereinzelte Kratzbewegung. Sonst keinerlei Erscheinungen
27	300	Milzbrandkultur abgeschwächt + Milzbrandser.	$^1/_2$ Oese 1,5 ccm	„	26	II [1])	7 „	intrap.	keine Erscheinung.
28	300	Milzbrandkultur abgeschwächt + Milzbrandser.	$^1/_4$ Oese 1,5 ccm	„	22	II [1])	7 „	„	dgl.
29	350	Milzbrandkultur abgeschwächt + Milzbrandser.	$^1/_8$ Oese 1,5 ccm	„	22	II [1])	2 „	intrav.	„

1) Ohne Karbolsäurezusatz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschw. No.	Gewicht in g	Vorbehandlung			Zeit intervall (Tage)	Prüfung			Erfolg
		Extrakt	Dosis	Injektion		Extrakt	Dosis	Injektion	
30	650	—	—	—	—	II	7 ccm	intrap.	vorübergehend Zittern und Zucken d. ganzen Körpers
31	470	—	—	—	—	II	7 „	„	stärkeres Zittern, hin und wieder Zuckungen
32	350	—	—	—	—	II [1])	2,2 „	intrav.	Unruhe, starker kratzend. Husten, Kratzbewegungen, geringes Zittern. Nach 1 Std. noch nicht ganz erholt.
33	450	—	—	—	—	III	1,5 „	„	stark. Zittern, Niesen u. kratzender Husten, Kratzbewegungen
34	380	—	—	—	—	III	2 „	„	stärkeres Zittern und wiederholtes Zusammenzucken des ganzen Körpers. Tier nach 1 Std. noch krank
35	350	—	—	—	—	0,5-proz. Karbolsäure	7 „	intrap.	heftige Krämpfe, Zuckungen u. Zittern des ganzen Körp. Lähmungsartige Schwäche der Beine. Nach ca. $^1/_2$ Std. wieder munter

Wie man sieht, ist die Nachimpfung in den meisten Fällen von reaktiven Erscheinungen begleitet gewesen. Eine genauere Prüfung aller in Betracht kommenden Umstände muß jedoch den größten Zweifel erwecken, ob es sich dabei um den Ausdruck einer durch die Vorbehandlung bedingten spezifischen Anaphylaxie oder nicht vielmehr um ganz andere Dinge gehandelt hat. Ich möchte entschieden das letztere annehmen und bin der Ansicht, daß von allen 29 Tieren kein einziges mit ausgesprochenen anaphylaktischen Symptomen reagiert hat. Die Erscheinungen, die sich bei den meisten Tieren bald nach der Injektion einstellten,

1) ohne Karbolsäurezusatz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

waren teils äußerst geringfügiger und unbestimmter Natur, teils so ganz anderer Art, als man sie bei der Anaphylaxie zu sehen gewohnt ist, daß ihre Deutung in diesem Sinne unzulässig erscheint. Abgesehen davon, daß sämtliche Tiere am Leben geblieben sind und, soweit sie ein abnormes Verhalten zeigten, nach kurzer Zeit wieder völlig munter waren, wurden fast in keinem Falle die charakteristischen Anzeichen der anaphylaktischen Reaktion, wie Schwäche, Umfallen der Tiere, Atemnot, krächzender Husten, Kratzbewegungen usw. beobachtet. Die vereinzelten Ausnahmen aber, in denen derartige Symptome andeutungsweise vorhanden waren, verlieren dadurch völlig an Beweiskraft, daß gerade 2 Kontrolltiere (No. 32 und 33) — ohne jede Vorbehandlung — genau die gleichen Erscheinungen in mindestens ebenso starkem, wenn nicht gar stärkerem Maße zu erkennen gaben.

Das mehr oder minder heftige Zittern und krampfartige Zucken, in das die Tiere nach der Impfung gewöhnlich verfielen, hatte sicherlich nichts mit Anaphylaxie zu tun, trat ebenfalls bei den Kontrolltieren auf (No. 30, 31, 34) und war zumeist einfach als Karbolsäurewirkung anzusprechen. Dies ergibt sich aus der Tatsache, daß der gleiche Symptomenkomplex, wie ihn namentlich die intraperitoneale Einverleibung größerer Extraktmengen (7 ccm) hervorrief, auch durch die Einspritzung von 7 ccm einer 0,5-proz. Karbolsäurelösung ausgelöst werden konnte (No. 35). Indessen mag vielleicht bis zu einem gewissen Grade die Beschaffenheit und Eigenart der Extrakte bei der Entstehung mitgewirkt haben, da Extrakt II (Antiformin) relativ häufig die in Rede stehenden Reaktionserscheinungen veranlaßt hat, die gleichfalls karbolisierten Extrakte I und III hingegen nur selten und schwächer, da ferner aber auch, wie No. 25 und 26 zeigen, der karbolfreie Extrakt II schon für sich allein imstande war, jene Wirkung hervorzubringen. Keinesfalls jedoch haben wir es mit einer durch die Vorbehandlung bedingten spezifisch anaphylaktischen Reaktion zu tun. Den Beweis hierfür liefert Kontrolltier No. 32. Die Vermutung liegt nahe, daß gerade bei dem Extrakt II (Antiforminextrakt) die zur Lösung der Bakteriensubstanz angewendeten chemischen Stoffe für die toxische Wirkung des Präparates, wie sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

immerhin angedeutet war, mit verantwortlich gemacht werden müssen.

Daß die Bakterienanaphylaxie nicht mit der gleichen Regelmäßigkeit und Sicherheit in die Erscheinung tritt wie die Serumanaphylaxie, scheint festzustehen[1]). Dennoch war der vollkommen negative Ausfall der hier berichteten Milzbrandversuche sehr eigentümlich, um so mehr, als von anderer Seite positive Angaben vorlagen. Eine Erklärung für die widersprechenden Ergebnisse, zu denen die Versuche der amerikanischen Forscher und meine eigenen geführt haben, ist zunächst nicht recht zu geben, wenn man nicht etwa annehmen will, daß es sich auch bei den von Rosenau und Anderson beobachteten Reaktionen um andersartige Erscheinungen, nicht aber um Aeußerungen echter Anaphylaxie gehandelt habe. Die Möglichkeit, daß vielleicht bei veränderter Versuchsanordnung der einwandfreie Nachweis für die Existenz einer Milzbrandanaphylaxie erbracht werden könnte, läßt sich natürlich nicht von der Hand weisen. Freilich scheint mir mancherlei dagegen zu sprechen. Einmal habe ich mich bezüglich der Bakterienextrakte, der Vorbehandlung und der späteren Infektion an das übliche und gerade für das Studium der Bakterienanaphylaxie bewährte Verfahren gehalten, auch verschiedene Modifikationen berücksichtigt, dann aber namentlich den Gang der Prüfung gewählt, der nach den Angaben von Rosenau und Anderson am sichersten zum Ziele führen mußte. Was mir aber vor allem die Richtigkeit meiner Versuchsergebnisse zu bestätigen schien, war die Tatsache, daß die Zellsubstanz der Milzbrandbakterien sich von dem Bakterieneiweiß fast aller übrigen, speziell der zur Erzeugung der Anaphylaxie geeigneten Bakterienarten sowohl in chemischer wie in biologischer Hinsicht auf das deutlichste unterscheidet. Im Gegensatz zu den Extrakten der Typhus-, Dysenterie-, Coli-, Heu-, Tuberkel-, Cholerabakterien usw., die sich nach den Untersuchungen von Kraus und Doerr[2]), Rosenau und Anderson[3]) im anaphylaktischen Versuch

1) Vergl. hierzu die Veröffentlichungen von Weil und Braun, Folia serol., 1909, sowie Holobut, diese Zeitschr., Bd. 3, p. 639, und Bd. 4, p. 252; Bail und Weil, diese Zeitschr., Bd. 4, p. 249.

2) Wien. klin. Wochenschr., 1908.

3) l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gut bewähren, entbehren die Milzbrandextrakte fast jeder giftigen Wirkung. Es liegt hierin, wie mir scheint, ein prinzipiell bedeutsamer und für die Beurteilung der vorliegenden Frage wohl entscheidender Unterschied zwischen Milzbrandsubstanzen und anderen bakteriellen Eiweißstoffen. Typhus-, Coli-, Cholera- usw. Extrakte wirken, ebenso wie auch das Eiweiß heterologer Serumarten, auf den Tierkörper für sich allein schon hochgradig toxisch, wofern man sie nur in entsprechender Dosis dem Organismus einverleibt, während abgetötete Milzbrandbakterien oder Milzbrandextrakte selbst in größten Mengen weder subkutan, noch intraperitoneal, noch intravenös nennenswerte Vergiftungserscheinungen hervorrufen.

Die biologische Eigenart der Milzbrandbakterien tritt aber noch in anderer Richtung zutage. So wie sich die Milzbrandimmunität und die spezifische Schutzkraft des Milzbrandserums auch sonst nicht in das allgemein gültige Immunitätsschema einfügen läßt, versagt, nach meinen Erfahrungen, insbesondere die Präzipitation und Komplementbindung.

Die Beziehungen dieser beiden Reaktionen zur Anaphylaxie bilden nun gerade neuerdings, namentlich mit Rücksicht auf die von Friedberger[1]) behauptete enge Zusammengehörigkeit der drei Phänomene, den Gegenstand eingehenden Studiums. Das Ausbleiben anaphylaktischer Symptome bei „sensibilisierten" Tieren würde also unter dieser Voraussetzung durch den negativen Ausfall der Präzipitin- und Komplementbindungsreaktion gewissermaßen eine weitere Bestätigung erfahren, und man könnte sagen, daß sich auch für den Milzbrand ein Parallelismus jener biologischen Vorgänge, und zwar im umgekehrten Sinne, nachweisen läßt. Freilich bestehen bezüglich der tatsächlichen Befunde noch weitgehende Differenzen. In oft wiederholten Experimenten hatte ich[2]) mit der Komplementbindung bei Milzbrand stets negative Resultate zu verzeichnen, während Bordet und Gengou[3]) über spezifische Komplementfixation berichten. Sie verwendeten

1) Vergl. diese Zeitschrift, Bd. 2 und 3.
2) Vergl. Kraus und Levaditi, Handbuch, Bd. 2, 1909.
3) Annal. de l'Instit. Pasteur, 1901.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein durch Vorbehandlung mit Vaccin I von Meerschweinchen gewonnenes Antiserum, unter Benutzung der gleichen Bakterien, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, als Antigen. Auch Cler[1]) gibt an, spezifisch komplementbindende Ambozeptoren im Milzbrandserum gefunden zu haben. Bei der Einwirkung des Milzbrandserums auf Extrakte von Milzbrandkulturen beobachteten Gruber und Futaki[2]) das Auftreten eines spezifischen Niederschlages, Bail[3]) hingegen äußert sich über den bei Vermischung von Milzbrandserum und Milzbrandödem wahrzunehmenden Präzipitationsvorgang neuerdings äußerst skeptisch. Er fand, daß diese Ausflockung, welche mehr an die Bildung von Gerinnseln erinnert, auch durch Zusatz von andersartigem Immunserum und von Normalserum hervorgerufen werden kann. Eine spezifische Komplementbindung hat er niemals beobachtet.

Unter diesen Umständen sah ich mich veranlaßt, die Frage der Komplementbindung und Präzipitation bei Milzbrand einer erneuten experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Auf Komplementbindung wurde nach den üblichen Grundsätzen untersucht. Als Antigen dienten zwei der oben beschriebenen Extrakte, No. II und III, ferner Kaninchenaggressin (Oedem), sowie Bakterienaufschwemmungen von virulentem und abgeschwächtem Milzbrand. Die verwendeten Milzbrandsera vom Rind, Schaf und Pferd stammten von hochimmunisierten Tieren und besaßen starke Schutzkraft. Die Inaktivierung erfolgte bei 56° (1/2 Std.). Zum Vergleich wurde stets normales Rinder-, Schaf- und Pferdeserum mit herangezogen. Weder die Sera noch die verschiedenen Antigene wirkten auf sensibilisierte Blutkörperchen lösend, im besonderen gilt dies für die Bakterienaufschwemmungen, die während der Versuchsdauer von 2 Stunden noch keine Hämolyse herbeiführten. Eigenhemmung war dagegen für alle verwendeten Substanzen nachweisbar. Die Dosierung wurde hiernach bemessen. Genauere Einzelheiten der mehrfach geänderten Versuchsanordnung sind aus den folgenden Tabellen ersichtlich. Die Kontrollen, die jedesmal in der gehörigen

1) Centralbl. f. Bakt., 1906, Bd. 40, Orig.
2) Deutsche med. Wochenschr., 1907.
3) Folia serolog., Bd. 4, 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weise angestellt wurden, sind nicht mit aufgeführt, Kontrollversuche mit normalem Serum nur, soweit es zur Beurteilung der Befunde erforderlich scheint.

Tabelle II, 1—14.
Komplementbindung.

1.

Milzbrandserum Schaf	Milzbrandextrakt	Hämolyse
0,05	0,5 II	schwache Hemm.
0,05	0,25	gelöst
0,05	0,1	
0,05	0,05	
0,05	0,01	
0,05	0,5 III	gelöst
0,05	0,25	
0,05	0,1	
0,05	0,05	
0,05	0,01	

2.

Milzbrandserum Schaf	Milzbrandextrakt	Hämolyse
0,1	0,1 II	gelöst
0,05	0,1	
0,02	0,1	
0,01	0,1	
0,005	0,1	
0,1	0,1 III	geringe Hemm.
0,05	0,1	gelöst
0,02	0,1	
0,01	0,1	
0,005	0,1	

3.

Milzbrandserum Rind	Milzbrandextrakt	Hämolyse
0,025	0,5 II	mäßige Hemm.
0,025	0,25	gelöst
0,025	0,1	
0,025	0,05	
0,025	0,01	
0,025	0,5 III	mäßige Hemm.
0,025	0,25	gelöst
0,025	0,1	
0,025	0,05	
0,025	0,01	

4.

Milzbrandserum Pferd	Milzbrandextrakt	Hämolyse
0,02	0,5 II	geringe Hemm.
0,02	0,25	gelöst
0,02	0,1	
0,02	0,05	
0,02	0,01	
0,02	0,5 III	starke Hemm.
0,02	0,25	schwache Hemm.
0,02	0,1	gelöst
0,02	0,05	
0,02	0,01	

5.

Milzbrandserum Pferd	Milzbrandextrakt	Hämolyse
0,05	0,1 II	gelöst
0,02	0,1	
0,01	0,1	
0,005	0,1	
0,001	0,1	
0,05	0,1 III	starke Hemm.
0,02	0,1	schwache Hemm.
0,01	0,1	gelöst
0,005	0,1	gelöst
0,001	0,1	fast gelöst

6.

Normales Pferdeserum	Milzbrandextrakt	Hämolyse
0,05	0,1 II	gelöst
0,02	0,1	
0,01	0,1	
0,005	0,1	
0,001	0,1	
0,05	0,1 III	starke Hemm.
0,02	0,1	fast gelöst
0,01	0,1	gelöst
0,005	0,1	gelöst
0,001	0,1	fast gelöst

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7.

Milzbrandserum, gemischt von Rind, Schaf, Pferd	Aggressin (Kaninchenödem)	Hämolyse
0,025	0,25	fast gelöst
0,025	0,1	gelöst
0,01	0,25	fast gelöst
0,01	0,05	gelöst
0,01	0,01	
0,01	0,005	

8.

Kultur	Milzbrandserum Schaf	Hämolyse
virul. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	völl. Hemmung
„ „	0,01	schwache Hemm.
„ „	0,001	gelöst
abgeschw. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	starke Hemmung
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	

9.

Kultur	Normales Schafserum	Hämolyse
virul. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	starke Hemmung
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	
abgeschw. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	schwache Hemm.
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	

10.

Kultur	Milzbrandserum Rind	Hämolyse
virul. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	fast völl. Hemm.
„ „	0,01	starke Hemmung
„ „	0,001	gelöst
abgeschw. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	fast völl. Hemm.
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	

11.

Kultur	Normales Rinderser.	Hämolyse
virul. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	starke Hemmung
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	
abgeschw. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	geringe Hemm.
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	

Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

12.

Kultur	Milzbrand-serum Pferd	Hämolyse
virul. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	völl. Hemmung
„ „	0,01	starke Hemmung
„ „	0,001	schwache Hemm.
abgeschw. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	starke Hemmung
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	

13.

Kultur	Normales Pferdeser.	Hämolyse
virul. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	völl. Hemmung
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	
abgeschw. Milzbr.		
1/2 Oese	0,1	starke Hemmung
„ „	0,01	gelöst
„ „	0,001	

14.

Serum	Kultur	Hämolyse
Milzbrandserum Pferd	virul. Milzbr.	
0,1	1/2 Oese	fast völlige Hemmung
0,05	dgl.	starke Hemmung
0,02	„	starke Hemmung
0,01	„	schwache Hemmung
0,005	„	gelöst
0,002	„	schwache Hemmung
0,001	„	schwache Hemmung
0,0005	„	fast gelöst
0,0002	„	gelöst
0,0001	„	
Normales Pferdeserum		
0,1	„	fast völlige Hemmung
0,05	„	starke Hemmung
0,02	„	starke Hemmung
0,01	„	fast gelöst
0,005	„	
0,002	„	gelöst
0,001	„	
0,0005	„	
0,0002	„	
0,0001	„	

Aus diesen Versuchen ergibt sich zunächst, wie die Protokolle 1—7 zeigen, ein völliges Versagen der Komplementbindung bei Verwendung von Extrakten und Aggressin. In dieser Hinsicht befinde ich mich somit in völliger Uebereinstimmung mit Bail und meinen eigenen früheren Feststellungen. Mit den Extrakten II und III blieb entweder jede Komplementbindung aus, oder aber sie trat nur in stärkeren Konzentrationen hervor, wie sie in gleicher Weise auch durch das normale Serum der entsprechenden Tierart

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erreicht wurde. Bemerkenswert ist die wiederholt gemachte Beobachtung, daß mitunter ganz geringe Serummengen, und zwar sowohl Immunserum wie Normalserum, etwas hemmend wirkten, während bei höheren Dosen glatte Lösung erfolgte (vergl. Tabelle II, 5 und 6). Ebenso wie mit Extrakten fiel die Komplementbindung mit Oedemflüssigkeit negativ aus. Etwas abweichende Ergebnisse wurden lediglich bei Verwendung lebender Kulturen erhalten. Der abgeschwächte Stamm reagierte zwar auch so gut wie gar nicht und gab mit normalem Serum fast genau die gleiche Ablenkung wie mit dem Milzbrandserum, wohl aber stellten die virulenten Bakterien in einigen Versuchen anscheinend ein wirksames Antigen dar. Am deutlichsten trat dies bei dem vom Pferd stammenden Milzbrandserum zutage. Auch Schaf- und Rinderimmunserum zeigten höhere komplementbindende Fähigkeiten als das normale Serum der gleichen Tierart, doch waren diese Differenzen nicht allzu erheblich. Das Pferdeserum hingegen wirkte in einer Weise, die zunächst ganz den Eindruck spezifischer Komplementbindung machte (Tabelle II, 12 und 13). Jedenfalls dürften die widersprechenden Angaben, die sich in der Literatur finden, hierdurch eine befriedigende Erklärung erhalten, insofern als die Art des benutzten Antigens von Bedeutung zu sein scheint: Die gleichen Milzbrandsera, insbesondere das Pferdeserum, die mit Extrakten und Aggressin keine Komplementbindung gaben, lieferten mit Aufschwemmungen virulenter Milzbrandbakterien ein positives Resultat. Wenn ich trotzdem Zweifel hege, ob die Ueberlegenheit, die das Milzbrandserum bei dieser letzteren Versuchsanordnung gegenüber dem normalen Serum erkennen läßt, auf einen besonderen Gehalt an spezifisch komplementbindenden Ambozeptoren zurückgeführt werden darf, so bestimmen mich dazu verschiedene Erwägungen und Beobachtungen. Eine genauere quantitative Analyse der Wirkung hat nämlich ein sehr eigentümliches Verhalten ergeben (Tabelle II, 14). Immunserum und Normalserum der gleichen Tierart zeigten bis zu einer gewissen Grenze eine ganz analoge Wirkung, die dadurch charakterisiert war, daß der Grad der Hemmung ungefähr der Menge des verwendeten Serums parallel ging und mit fortschreitender Serumverdünnung abnahm. Während nun aber

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das normale Serum, sobald die nicht mehr hemmende Dosis erreicht war, auch in weiteren Verdünnungen unwirksam blieb, setzte für das Immunserum von neuem eine Hemmungskurve ein. Der in Tabelle II, 14 angeführte Versuch zeigt z. B., daß das Milzbrandserum in der Dosis von 0,005 die Hämolyse in keiner Weise mehr störte, wogegen Mengen von 0,002 bis 0,0005 wieder Hemmung hervorriefen. Das Serum für sich allein besaß, wie durch besondere Versuche festgestellt wurde, diese Eigentümlichkeit nicht. Da die Resultate der Komplementbindung überdies in verschiedenen und oft wiederholten Versuchsreihen nicht immer ganz gleichartig ausfielen, so möchte ich, im Hinblick auf den unregelmäßigen Verlauf der Hemmungskurve, Bedenken tragen, die beobachtete Wirkung einfach mit spezifischen Immunstoffen des hochwertigen Serums in ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Sehr auffallend ist auch, daß die beiden anderen Milzbrandsera vom Rind und vom Schaf, von denen namentlich das letztere über hohe Schutzkraft verfügte, und die beide genau wie das Pferdeserum von hochimmunisierten Tieren stammten, kaum stärker wirkten als normales Rinder- oder Schafserum. In diesem Zusammenhange sei ferner auf die interessanten Beobachtungen von Boidin und Fiessinger[1]) hingewiesen, die sich mit dem Studium der komplementbindenden Fähigkeit normaler Sera für Milzbrand beschäftigten. Schon Malvoz[2]) hatte dies getan und hierbei einen Zusammenhang zwischen hemmender Wirkung des Serums und Empfänglichkeit bezw. Widerstandsfähigkeit der Tierart feststellen wollen. Insbesondere ergab sich für das normale Hundeserum bei Vermischung mit Milzbrandbakterien eine starke Komplementbindungsreaktion. Diese letztere Angabe wird nun zwar von Boidin und Fiessinger im allgemeinen bestätigt, jedoch dahin ergänzt, daß die Wirkung des Serums von mannigfachen äußeren Einflüssen abhängig ist und durch Aenderungen seiner chemisch-physikalischen Eigenschaften deutlich alteriert wird. Die Ernährungsweise der Tiere ist möglicherweise schon von Bedeutung. Namentlich wirken opaleszierende Sera — nicht allein, aber nach Zusatz von Milz-

1) Compt. rend. de la Soc. de Biol., Bd. 65, 1908.
2) Annal. de l'Inst. Pasteur, 1902.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

brandkultur — stärker komplementbindend als völlig klare Sera der gleichen Tierart. Auch durch Erwärmen auf höhere Temperaturen kann die Hemmungskraft des Serums künstlich gesteigert werden.

Endlich sei kurz bemerkt, daß ich eine Präzipitation bei Zusatz der verschiedenen Milzbrandsera zu den von mir benutzten Extrakten niemals beobachtet habe. Die Extrakte wurden in Mengen von 0,5 ccm in Röhrchen gefüllt, mit Serumverdünnungen von 1:10 bis 1:200 vermischt und alsdann 24—48 Stunden bei 37° aufbewahrt. Die Lösungen blieben stets ebenso klar wie die Kontrollen.

Zusammenfassung.

1) Anaphylaktische Erscheinungen, wie man sie im Anschluß an Simultanimpfungen gegen Milzbrand bei Rindern und Pferden gelegentlich beobachtet hat, gehören in das Gebiet der Serumanaphylaxie. Für Rinder ist das von Pferden und Schafen gewonnene, für Pferde das von Rindern und Schafen stammende Milzbrandserum unter Umständen schädlich. Die Serumempfindlichkeit ist, wenn auch sehr selten, schon bei erstmalig geimpften Individuen zu konstatieren, macht sich aber in gesteigertem Maße bei wiederholt geimpften Tieren bemerkbar. Es empfiehlt sich daher, für Impfungen in der Praxis fortan immer nur das der Tierart homologe Serum zu verwenden.

2) Daß bei den anaphylaktischen Symptomen nach Simultanimpfungen auch die Bakterienanaphylaxie eine Rolle spielt, ist nicht anzunehmen. Laboratoriumsexperimente an Meerschweinchen haben keinen Anhaltspunkt dafür ergeben, daß sich bei Milzbrand eine Bakterienanaphylaxie erzeugen läßt.

3) Komplementbindungsversuche mit Milzbrandserum und Kulturextrakten, sowie Oedemflüssigkeit (Aggressin) fielen völlig negativ aus. Bei Benutzung lebender Kulturen zeigte das Serum in einigen Fällen hemmende Wirkung, doch ist es zweifelhaft, ob es sich hierbei um spezifische Eigenschaften des hochwertigen Immunserums handelt. Präzipitation wurde niemals beobachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg (Direktor: Prof. Dr. W. Kruse).]

Ueber den Gehalt und Bau der Alexine und Opsonine im mütterlichen und fötalen Serum.

Von Dr. **Th. J. Bürgers,**
1. Assistenten des Instituts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. März 1910.)

Unterschiede zwischen mütterlichem und fötalem Serum sind schon seit langer Zeit studiert worden. Ich verzichte auf ein eingehendes Literaturreferat, das der Interessent bei Heymann[1]), Halban und Landsteiner[2]), zum Teil auch bei Becker[3]) findet.

Den Anlaß zu meinen Untersuchungen bot der Umstand, daß zwar von Halban und Landsteiner in einem Versuch eine stärkere bakterizide Wirkung des mütterlichen als des fötalen Serums, aber nicht die Ursache dieser Erscheinung, ob auf Komplement- oder Ambozeptorenmangel beruhend, nachgewiesen war, während bezüglich der hämolytischen Substanzen dieser Sera ein Ambozeptorenmangel im kindlichen Serum oft festgestellt werden konnte (Landsteiner, Moro).

Da aber eine Identität des hämolytischen und bakteriziden Komplements und der dazu gehörigen Ambozeptoren keineswegs feststeht, ja sogar unwahrscheinlich ist, schien mir ein eingehendes Studium bezüglich der bakteriziden Wirkung von mütterlichem und fötalem Serum zum mindesten interessant. Um so wichtiger sind vielleicht diese Versuche, als überhaupt über die Zusammensetzung gerade der normalen bakteriziden Alexine noch erhebliche Zweifel bestehen. Ferner glaubte ich, gerade diese Sera mit Vorteil zum Studium über die Natur der Opsonine heranziehen zu können. Mitteilungen hierüber

1) F. Heymann, Fol. haematol., 1906, No. 1 u. 2.
2) Halban und Landsteiner, Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 12.
3) Becker, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 22.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fehlen fast vollständig. Nur Wright[1]) berichtet über zwei Fälle, in denen das fötale Serum fast ebensoviel Opsonine enthielt wie das mütterliche.

Meine bakteriziden Versuche beziehen sich auf je 29 mütterliche und kindliche Sera.

Geprüft wurde die Bakterizidie gegen einen und denselben Dysenteriestamm, dessen Virulenz eine konstante Höhe hatte. Die Versuchstechnik war so, daß in kleine Röhrchen je drei Tropfen des zu untersuchenden Serums, dazu 1 Tropfen einer mit einer kleinen Oese Kultur hergestellten dünnen Bouillon kam. Aussaat zu Platten sofort nach 2 und 4 resp. 3 und 6 Stunden mit einer und derselben Oese. Daß bei solchen bakteriziden Versuchen besondere Sorgfalt notwendig ist, bedarf kaum der Erwähnung; trotzdem erhält man oft Ergebnisse, die nur auf Versuchsfehler zurückgeführt werden können. Ich lege auch auf kleine Unterschiede in der Keimzahl keinen allzugroßen Wert, da, wie mir diesbezügliche Untersuchungen ergeben haben, Platten mit einer und derselben Oese aus einer und derselben Bakterienaufschwemmung besät, im Keimgehalt oft um 1000 differieren.

Zuerst wurde die Bakterizidie der Sera in verschiedenen Verdünnungen derselben geprüft. Es handelt sich jedesmal um normales Serum von Mutter und Kind. Ersteres war aus retroplacentarem Blute, letzteres aus Nabelschnurblut gewonnen. Wie frühere vergleichende Untersuchungen[2]) ergeben haben, kann man ohne Bedenken retroplacentares Blut verwenden, da es gegenüber dem aus der Fingerbeere oder Armvene gewonnenen keinen Unterschied zeigt. Das Blut wurde spätestens 4—6 Stunden nach Entnahme zentrifugiert, die so gewonnenen Sera wurden möglichst bald geprüft, wenn dies nicht angängig, im Frigo oder Eisschrank aufbewahrt.

Das Material verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrat Fritsch-Bonn und der des Herrn Geheimrat Winter-Königsberg und ihrer Herren Assistenten, denen ich an dieser Stelle dafür meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

1) Wright-Douglas, Proc. 159.
2) Landsteiner.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

1 Normalöse enthielt:	Versuch 1 nach $1^1/_2{}^h$	Versuch 1 nach 3^h	Versuch 2 nach 2^h	Versuch 2 nach 4^h	Versuch 3 nach 2^h	Versuch 3 nach 4^h	Versuch 4 nach 2^h	Versuch 4 nach 4^h	Versuch 5 nach 2^h	Versuch 5 nach 4^h	Versuch 6 nach 2^h	Versuch 6 nach 4^h
3 Tr. M.S. konz. (+ 1 Trpf. Dysenterieaufschw.)	60	0	6	0	2 700	3 300	35	0	1 000	10	160	0
3 „ „ 2 : 3												
3 „ „ 1 : 2	80	0	340	2600	3 900	16 000	7	0	2 000	3000	400	2
3 „ „ 1 : 9											2500	3 600
3 „ „ 1 : 19												
3 „ F.S. konz.	2400	750	900	3100	20 000	60 000	27	28	300	46	3400	6 900
3 „ „ 2 : 3												
3 „ „ 1 : 2	1950	4600	900	7800	11 000	75 000	1 900	30 000	5 500	8 700	7000	13 000
3 „ „ 1 : 9											4200	30 000
3 „ „ 1 : 19												
3 „ M.S. 55°	3100	2700	4 500	4300	1 300	18 000	2 400	8 700	7 500	13 000	1800	1 800
3 „ F.S. 55°	1900	2800	3 600	19 000	25 000	90 000	4 000	30 000	6 300	13 000	4800	30 000
3 „ Bouillon	4000	4300	16 000	75 000	4 400	13 000	16 000	45 000	12 000	26 000	6700	45 000
Kontr. (Einsaat)	1500		6000		6700		4300		4800		3350	

1 Normalöse enthielt:	Versuch 7 nach 2^h	Versuch 7 nach 4^h	Versuch 8 nach 2^h	Versuch 8 nach 4^h	Versuch 9 nach 2^h	Versuch 9 nach 4^h	Versuch 10 nach 2^h	Versuch 10 nach 4^h	Versuch 11 nach 2^h	Versuch 11 nach 4^h	Versuch 12 nach 2^h	Versuch 12 nach 4^h
3 Tr. M.S. konz. (+ 1 Trpf. Dysenterieaufschw.)	3	0	60	0	270	900	160	0	3	0	3	0
3 „ „ 2 : 3			100	2								
3 „ „ 1 : 2	110	200	1 350	70	1 050	3 300	400	2	110	200		
3 „ „ 1 : 9	3 100	10 000	1 800	41 000	3 300	14 000	2500	3 600	3 100	10 000	1 050	2 250
3 „ „ 1 : 19	4 800	26 000			3 900	30 000			4 800	26 000	6 900	9 600
3 „ F.S. konz.	220	220	3 700	2 700	5 100	23 000	3400	6 900	220	220	60	0
3 „ „ 2 : 3			5 400	8 700								
3 „ „ 1 : 2	2 200	23 000	7 300	3 300	3 000	24 000	7000	13 000	2 200	23 000		
3 „ „ 1 : 9	7 900	21 000	21 000	31 000	8 700	32 000	4200	30 000	7 900	21 000	4 050	22 000
3 „ „ 1 : 19	6 700	30 000			6 000	31 000			6 700	30 000	5 250	19 300
3 „ M.S. 55°	2 100	6 100	25 500	20 000			1800	1 800	2 100	6 100	4 050	14 100
3 „ F.S. 55°	7 300	27 000	9 600	27 000			4000	30 000	7 300	27 000	3 750	6 900
3 „ Bouillon	16 000	40 000	19 000	30 000	10 000	60 000	6700	45 000	16 000	40 000	14 700	21 000
Kontr. (Einsaat)	6000		3550		5500		3400		7000		4900	

1 Normalöse enthielt:	Versuch 13 nach 2^h	Versuch 13 nach 4^h	Versuch 14 nach 2^h	Versuch 14 nach 5^h	Versuch 15 nach 3^h	Versuch 15 nach 6^h	Versuch 16 nach 2^h	Versuch 16 nach 4^h	Versuch 17 nach 3^h	Versuch 17 nach 24^h
3 Trpf. M.S. konz. (+ 1 Trpf. Dysenteriekultur)	520	0					0	0		
3 „ „ 1 : 2			30	10	0	25			15	0
3 „ „ 1 : 5	360	12	40	12			0	0		
3 „ „ 1 : 8					0	120			1	0
3 „ „ 1 : 11	1100	3920	100	280			0	0		
3 „ „ 1 : 17			1300	2860	1 430	25 200	10	0		
3 „ „ 1 : 29			2080	26 000	1 430	30 000	12	12	800	∞
3 „ F.S. konz.	1100	15					3 770	8 320	500	
3 „ „ 1 : 2			2600	32 000	1 040	26 000			200	0
3 „ „ 1 : 5	1360	15 000	3500	50 000			3 120	52 000		∞
3 „ „ 1 : 8					31 000	52 000			2200	∞
3 „ „ 1 : 11	1440	16 000	2200	50 000			7 800	50 000		
3 „ „ 1 : 17			6890	50 000	32 000	60 000	6 890	100 000		
3 „ „ 1 : 29			5000	65 000	39 000	50 000	11 900	100 000	6500	∞
3 „ M.S. 55°	2220	3 090	3640 [1])	50 000	3 640	15 000				
3 „ F.S. 55°	3200	15 000	3640 [1])	52 000	4 160	45 000				
3 „ Bouillon	2300	30 000	4500	100 000	7 150	65 000			7200	∞
Kontrolle (Einsaat)	2600		3300		6000		3200		4550	

1) In diesem Versuch waren die Sera auf 60° 1 Stunde erhitzt worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In vorstehender Tabelle, in der M.S. = mütterliches Serum, F.S. = fötales Serum bedeutet, sind die Ergebnisse 17 verschiedener Sera zusammengestellt, wobei auch inaktiviertes Serum geprüft wurde.

Es zeigt sich die Tatsache, daß das kindliche Serum dem mütterlichen an Wirksamkeit bedeutend nachsteht. Gänzlich unwirksame mütterliche Sera sind mir nicht vorgekommen, dagegen verschiedene fötale (5 von 17). Oft war das mütterliche Serum 3—10mal stärker als das kindliche. Ferner ergab sich die älteren Erfahrungen entsprechende Tatsache, daß manche Sera, namentlich mütterliche, durch $^1/_2$—1-stündige Erhitzung auf 55—58° nicht ganz ihre Bakterizidie verloren. Ein proportionales Verhältnis zwischen der Stärke der Bakterizidie und der mangelnden Inaktivierbarkeit ist manchmal, aber durchaus nicht konstant, vorhanden. Dagegen scheinen zwischen der Stärke der Bakterizidie der entsprechenden mütterlichen und kindlichen Sera meist, aber nicht immer (siehe Sera 16), proportionale Beziehungen zu bestehen.

Worauf beruht nun dieser Unterschied in der Bakterizidie? Auf einem Ambozeptoren- oder Komplementmangel oder auf dem Fehlen beider Substanzen? Dieses mußte sich nachweisen lassen dadurch, daß man an und für sich unwirksame Komplementmengen durch Ambozeptormengen zu ergänzen versuchte. Ich gebe daher in folgendem 6 Versuche ausführlich wieder, bei deren Betrachtung wir vorläufig von der Voraussetzung ausgehen wollen, daß in den Seris thermolabiles Komplement und thermostabile Ambozeptoren enthalten seien.

Die ersten Reihen in folgenden Tabellen stehen zwar schon in der Uebersichtstabelle, mußten aber des Vergleichs halber nochmals hier angeführt werden. Die nachgesetzte Zahl, z. B. 55°, bedeutet den Erhitzungsgrad für die inaktivierten Sera.

Aus dem ersten Versuch (Tabelle II) kann man folgende Schlußfolgerung ziehen: Das M.S. ist erst in einer Verdünnung von 1 : 19 unwirksam, wie am nächsten Tage ermittelt wurde. Das F.S. entbehrt fast jeder bakteriziden Kraft. Durch Erhitzung auf 55° verliert das M.S. nicht ganz seine Wirkung, das F.S. dagegen vollständig. Diese Erscheinung, welche uns noch öfter begegnen wird, erschwert die Beurteilung des Versuches ungemein, da man immer die stärkere bakterizide

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

No.	Serumverdünnung	1 Normalöse enthielt sofort	nach 2h	nach 4h
1	3 Trpf. M.S. konz. + 1 Trpf. Dys.-Bouill.		160	0
2	3 „ „ 1:2 + 1 „ dgl.		400	2
3	3 „ „ 1:9 + 1 „ „		2500	3 600
4	3 „ „ 55° + 1 „ „		1800	1 800
5	3 „ F.S. konz. + 1 „ „		3400	6 900
6	3 „ „ 1:2 + 1 „ „		7000	13 000
7	3 „ „ 1:9 + 1 „ „	3400	4200	30 000
8	3 „ „ 55° + 1 „ „		4800	30 000
9	3 „ Bouillon + 1 „ „	3300	6700	45 000
10	2 „ F.S. + 1 Trpf. M.S. 55° + 1 „ „		750	34
11	2 „ „ + 1 „ F.S. 55° + 1 „ „		3400	18 000
12	1 „ „ + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		2800	2 800
13	1 „ „ + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		4600	20 000
14	1 „ „ (1:2) + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1300	4 300
15	1 „ „ (1:2) + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		7800	27 000
16	2 „ MS. + 1 „ „ 55° + 1 „ „		25	3
17	2 „ „ + 1 „ M.S. 55° + 1 „ „		280	68
18	1 „ „ + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		300	400
19	1 „ „ + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1900	3 300
20	1 „ „ (1:2) + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		2200	6 900
21	1 „ „ (1:2) + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „	3900	1900	1 800
	Am nächsten Tage geprüft:			
1	3 Trpf. M.S. 1:9 + 1 Trpf. Dys.-Bouill.	4000	2400	5 500
2	3 „ „ 1:19 + 1 „ dgl.		4500	13 900

Wirkung in Röhrchen 12 und 14 (im Vergleich zu 6 und 7) anstatt auf den Komplementgehalt des F.S. und den Ambozeptorengehalt des M.S. auf die auffallende bakterizide Kraft des inaktivierten M.S. beziehen kann.

Noch bemerkenswerter ist die Beobachtung, daß der Zusatz von diesem inaktivierten M.S. sowie auch von inaktiviertem F.S. zu an und für sich stark wirkenden Serummengen von M.S. deren bakterizide Kraft herabsetzt (siehe No. 18 und 19 im Vergleich zu 2, und 20 im Vergleich zu 3). An eine Komplementablenkung durch Ambozeptoren ist nicht zu denken, da auch der Zusatz von fötalem inaktivierten Serum Herabsetzung der Bakterizidie verursacht. Wir haben daher anscheinend eine Hemmung durch erhitztes Serum vor uns, wie sie in hämolytischen Versuchen öfters gefunden worden ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für bakteriolytische Sera kämen die antagonistischen Substanzen von Pfeiffer und Friedberger in Betracht.

Sicher aber scheint mir durch den Versuch bewiesen, daß dieses F.S. keine Ambozeptoren enthält; ob auch der Komplementgehalt geringer als im M.S. ist, läßt sich aus dem oben angeführten Grunde nicht ermitteln.

Tabelle III.

No.	Serumverdünnung	1 Normalöse enthielt sofort	nach 2h	nach 4h
1	3 Trpf. M.S. konz. + 1 Trpf. Dys.-Bouill.		3	0
2	3 „ „ 1:2 + 1 „ dgl.		110	200
3	3 „ „ 1:9 + 1 „ „		3 100	10 000
4	3 „ „ 1:19 + 1 „ „		4 800	26 000
5	3 „ „ 55° + 1 „ „		2 100	6 100
6	3 „ F.S. konz. + 1 „ „		220	220
7	3 „ „ 1:2 + 1 „ „		2 200	23 000
8	3 „ „ 1:9 + 1 „ „		7 900	21 000
9	3 „ „ 1:19 + 1 „ „		6 700	30 000
10	3 „ „ 55° + 1 „ „		7 300	27 000
11	3 „ Bouillon + 1 „ „	7600	16 600	40 000
12	2 Trpf. F.S. + 1 Trpf. M.S. 55° + 1 „ „		110	120
13	2 „ „ + 1 „ F.S. 55° + 1 „ „		900	2 800
14	1 „ „ + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		2 700	2 000
15	1 „ „ + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „	4800	1 200	19 000
16	1 „ „ (1:2) + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		3 200	7 200
17	1 „ „ (1:2) + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		6 100	15 000
18	2 „ M.S. + 1 „ F.S. 55° + 1 „ „		400	100
19	2 „ „ + 1 „ M.S. 55° + 1 „ „		12	0
20	1 „ „ + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		80	200
21	1 „ „ + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		600	900
22	1 „ „ (1:2) + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		2 400	8 700
23	1 „ „ (1:2) + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1 800	3 600
24	1 „ „ (1:5) + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „	8800	4 300	4 600

Analoge Verhältnisse treffen wir im zweiten Versuche; auch hier ist M.S. nicht mehr wirksam in der Verdünnung 1:9—1:19, F.S. dagegen schon in Verdünnung 1:2. Inaktiviertes M.S. besitzt noch geringe bakterizide Kraft, inaktiviertes F.S. dagegen nicht. Der Vergleich von No. 14 einerseits, No. 5 u. ff. andererseits lehrt, daß F.S. Komplement, M.S. 55° Ambozeptoren enthalten muß. Der Komplementgehalt des F.S. ist aber etwa halb so groß wie der des M.S.,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wie ein Vergleich von No. 3 und 9, 16 und 23 zeigt. In beiden besteht ein Verhältnis ungefähr von 1 : 2. Weiterhin ist aus der Betrachtung von No. 14 und 15 zu 7, 16 und 17 zu 8 ersichtlich, daß F.S. 55° keine Ambozeptoren enthalten kann.

Hervorheben möchte ich noch, daß in diesem Versuche der Zusatz von inaktivem Serum die Wirkung des aktiven Serums nicht beeinträchtigt hat.

Tabelle IV.

No.	Serumverdünnung	1 Normalöse enthielt		
		sofort	nach 2h	nach 4h
1	3 Trpf. M.S. konz. + 1 Trpf. Dys.-Bouill.		3	0
2	3 „ „ 1:9 + 1 „ dgl.		1 050	2 250
3	3 „ „ 1:19 + 1 „ „		6 900	9 600
4	3 „ F.S. konz. + 1 „ „		60	0
5	3 „ „ 1:9 + 1 „ „		4 050	22 000
6	3 „ „ 1:19 + 1 „ „		5 250	19 300
7	3 „ M.S. 55° + 1 „ „	5100	4 050	14 100
8	3 „ F.S. 55° + 1 „ „		3 750	6 900
9	1 „ M.S. 1:9 + 2 Trpf. M.S. 55° + 1 „ „		825	1 200
10	1 „ „ 1:9 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		675	825
11	1 „ „ 1:19 + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		2 250	3 900
12	1 „ „ 1:19 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		675	2 700
13	1 „ F.S. 1:9 + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1 500	6 900
14	1 „ „ 1:9 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		1 350	4 800
15	1 „ „ 1:19 + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1 200	4 050
16	1 „ „ 1:9 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		1 425	6 000
17	3 „ Bouillon + 1 „ „	4800	14 700	21 000

Der dritte Versuch zeigt folgende Ergebnisse: Aktives F.S. ist wieder halb so bakterizid wie aktives M.S. Merkwürdigerweise hat inaktiviertes F.S. nicht vollständig seine Bakterizidie verloren (No. 8 zu 17), inaktives M.S. dagegen wohl. Wenn auch die Reihen 1—6 und 9—16 nicht direkt vergleichbar sind, da letztere ja dreimal weniger Komplement enthalten, so ist doch ersichtlich, daß in diesem Versuche F.S. 55° Ambozeptoren enthalten muß (Keimzahl in 10, 12 und 14 kleiner als in 3 und 6 bezw. 8). Ebenso scheint es, daß der Komplementgehalt des M.S. größer ist, als der des F.S. (siehe 10 und 14, 12 und 16).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

No.	Serumverdünnung	1 Normalöse enthielt sofort	nach 2h	nach 4h
1	3 Trpf. M.S. konz. + 1 Trpf. Dys.-Bouill.		520	0
2	3 „ „ 1:5 + 1 „ dgl.		360	12
3	3 „ „ 1:11 + 1 „ „		1100	3 920
4	3 „ F.S. konz. + 1 „ „		1100	15
5	3 „ „ 1:5 + 1 „ „		1360	15 000
6	3 „ „ 1:11 + 1 „ „		1440	16 000
7	3 „ M.S. 55° + 1 „ „		2220	3 090
8	3 „ F.S. 55° + 1 „ „		3200	15 000
9	1 „ M.S. 1:2 + 2 Trpf. M.S. 55° + 1 „ „		1100	2 900
10	1 „ „ 1:2 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		900	3 240
11	1 „ „ 1:3 + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1740	3 540
12	1 „ „ 1:3 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		930	4 560
13	1 „ F.S. 1:2 + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1240	4 140
14	1 „ „ 1:2 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		1530	12 000
15	1 „ „ 1:3 + 2 „ M.S. 55° + 1 „ „		1170	2 200
16	1 „ „ 1:3 + 2 „ F.S. 55° + 1 „ „		2160	12 000
17	1 „ Bouillon + 1 „ „	2600	2300	30 000

Im vierten Versuche, dessen Zahlen genau vergleichbar sind, da die Komplementmengen im ungemischten Serum die gleichen sind, wie in den Kombinationen, begegnen wir wieder zwei uns schon bekannten Erscheinungen, nämlich 1) die Erhitzung des M.S. auf 55° reicht nicht völlig zur Inaktivierung aus; 2) Zusatz von inaktivem Serum setzt die bakterizide Kraft aktiver Serummengen herab (No. 9:2). Ferner besteht kein Zweifel darüber, daß F.S. wohl Komplement, aber keine Ambozeptoren besitzt, während M.S. 55° die letzteren enthält (No. 13, 14, 15, 16 zu 5 und 8).

Um völlige Inaktivierung zu erzielen, erhitzte ich in einem Versuche die Sera 1 Stunde auf genau 60°. Die Prüfung ergab jedoch, daß sie wohl jegliche bakterizide Kraft, aber auch ihre Reaktivierbarkeit durch Komplement verloren hatten.

Ich wählte daher für den folgenden Versuch 58° als Inaktivierungstemperatur.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

No.	Serumverdünnung	1 Normalöse enthielt sofort	nach 3h	nach 6h
1	3 Trpf. M.S. 1:2 + 1 Trpf. Dys.-Bouill.		0	25
2	3 „ „ 1:8 + 1 „ dgl.		0	120
3	3 „ „ 1:7 + 1 „ „		1 430	25 200
4	3 „ „ 1:29 + 1 „ „		1 430	30 000
5	3 „ F.S. 1:2 + 1 „ „	4290	1 040	26 000
6	3 „ „ 1:8 + 1 „ „		31 000	52 000
7	3 „ „ 1:17 + 1 „ „		32 000	60 000
8	3 „ „ 1:29 + 1 „ „		39 000	50 000
9	3 „ M.S. 58° + 1 „ „		3 640	15 800
10	3 „ F.S. 58° + 1 „ „		4 160	45 000
	Am folgenden Tage:			
11	1 Trpf. M.S. 1:5 + 2 Trpf. M.S. 58° + 1 Trpf. Dys.-Bouill.		3380	4 600
12	1 „ „ 1:5 + 2 „ F.S. 58° + 1 „ dgl.		3380	28 000
13	1 „ „ 1:5 + 1 „ M.S. 58° + 1 Trpf. NaCl + 1 „ „		1950	11 100
14	1 „ „ 1:5 + 1 „ F.S. 58° + 1 „ „ + 1 „ „		5070	12 800
15	1 „ F.S. + 2 „ M.S. 58° 1 „ „		2730	7 930
16	1 „ „ + 2 „ F.S. 58° 1 „ „		2990	35 300
17	1 „ „ + 1 „ M.S. 58° + 1 Trpf. NaCl + 1 „ „		2530	7 400
18	1 „ „ + 1 „ F.S. 58° + 1 „ „ + 1 „ „		2600	54 000
19	1 „ M.S. 1:5 + 2 „ inakt. Imm.-Ser. 1:1000 + 1 „ „		2080	7 000
20	1 „ „ 1:5 + 2 „ „ „ 1:100 + 1 „ „		2340	4 940
21	1 „ F.S. + 2 „ „ „ 1:1000 + 1 „ „		4420	2 340
22	1 „ „ + 2 „ „ „ 1:100 + 1 „ „	9000	2600	5 200
23	3 „ Bouillon + 1 „ „	5300	7150	65 000

Der Versuch wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen angestellt, da zunächst die unwirksame Komplementmenge ermittelt werden mußte. Dabei erwies sich das M.S. etwa 6mal stärker bakterizid als das F.S.; die Temperatur von 58° hatte eine völlige Inaktivierung erzielt. Die Prüfung des Ambozeptorgehaltes ergab ein positives Resultat für M.S., ein negatives für F.S. Sowohl diese Reihe (11—18) als die folgende (19 bis 22), wo als Ambozeptor inaktiviertes Immunserum verwendet wurde, spricht aber auch für einen geringeren Komplementgehalt des F.S. gegenüber dem M.S.

Auch in dem folgenden Versuche (Tabelle VII) übertrifft die bakterizide Kraft des M.S. die des F.S. um ein Bedeutendes. No. 18—21 beweisen wieder das Fehlen der Ambozeptoren im F.S., das Vorhandensein derselben im M.S. No. 22 und 23 könnte zu dem Schluß verleiten, daß F.S. kein Komplement enthalte. Daß dem aber nicht so ist, lehrt ein Blick auf No. 30—36, wobei aber zu berücksichtigen ist, daß die niedrige Zahl in 34

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

No.	Serumverdünnung		1 Normalöse enthielt nach 3h	nach 6h
1	3 Trpf. M.S. 1:2	+ 1 Trpf. Dys.-Bouill.	15	—
2	3 „ „ 1:8	+ 1 „ dgl.	1	—
3	3 „ „ 1:14	+ 1 „ „	10	—
4	3 „ „ 1:20	+ 1 „ „	50	—
5	3 „ „ 1:29	+ 1 „ „	800	—
6	3 „ F.S. 1:	+ 1 „ „	500	—
7	3 „ „ 1:2	+ 1 „ „	200	—
8	3 „ „ 1:8	+ 1 „ „	2200	—
9	3 „ „ 1:14	+ 1 „ „	3900	—
10	3 „ „ 1:20	+ 1 „ „	2940	—
11	3 „ „ 1:29	+ 1 „ „	6500	—
12	3 „ Bouillon	+ 1 „ „	7280	—
	Einsaat		4500	—
13	3 Trpf. M.S. 1:29	+ 1 „ „	2340	21 000
14	3 „ „ 1:59	+ 1 „ „	5460	52 000
15	3 „ F.S. 1:14	+ 1 „ „	5980	47 000
16	3 „ M.S. 58°	+ 1 „ „	2200	18 200
17	3 „ F.S. 58°	+ 1 „ „	2200	39 000
18	1 „ M.S. 1:9 + 2 Trpf. M.S. 58°	+ 1 „ „	2470	9 490
19	1 „ „ 1:9 + 2 „ F.S. 58°	+ 1 „ „	5590	39 000
20	1 „ „ 1:19 + 2 „ M.S. 58°	+ 1 „ „	2080	12 600
21	1 „ „ 1:19 + 2 „ „ 58°	+ 1 „ „	7800	39 000
22	1 „ F.S. 1:4 + 2 „ F.S. 58°	+ 1 „ „	3900	32 000
23	1 „ „ 1:4 + 2 „ „ 58°	+ 1 „ „	3100	100 000
24	1 „ M.S. 1:9 + 2 „ inakt. I.-Ser. 1:1000	+ 1 „ „	3900	4 940
25	1 „ „ 1:9 + 2 „ „ „ 1:10000	+ 1 „ „	1170	3 380
26	1 „ „ 1:9 + 2 „ „ „ 1:100000	+ 1 „ „	4680	25 400
27	1 „ „ 1:19 + 2 „ „ „ 1:1000	+ 1 „ „	300	4 900
28	1 „ „ 1:19 + 2 „ „ „ 1:10000	+ 1 „ „	1560	10 000
29	1 „ „ 1:19 + 2 „ „ „ 1:100000	+ 1 „ „	4160	40 000
30	1 „ F.S. 1:4 + 2 „ „ „ 1:1000	+ 1 „ „	2730	910
31	1 „ „ 1:4 + 2 „ „ „ 1:10000	+ 1 „ „	3250	9 300
32	1 „ „ 1:4 + 2 „ „ „ 1:100000	+ 1 „ „	4500	32 000
33	1 „ NaCl. + 2 „ „ „ 1:1000	+ 1 „ „	4030	7 200
34	1 „ „ + 2 „ „ „ 1:10000	+ 1 „ „	4100	26 000
35	1 „ „ + 2 „ „ „ 1:100000	+ 1 „ „	5300	80 000
36	3 „ Bouillon	+ 1 „ „	9300	80 000
37	Kontrolle a	+ 1 „ „	1300	—
38	„ b	+ 1 „ „	2200	—

sich durch Agglutination erklärt, während diese in den anderen Röhrchen nicht auftrat. Daß der Komplementgehalt des M.S. den des F.S. übersteigt, entspricht den vorigen Versuchen.

Die Prüfung von M.S. und F.S. von Kaninchen ergab analoge Verhältnisse wie bei den menschlichen Seris. Beiläufig möchte ich einen Befund von einem Hammelblutimmuntier und dessen Fötus erwähnen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIII.

No.									Hämolyse nach 24h
1	0,35 M.S. I	+ 0 25	Cobragift	(1 : 4000)	+ 0,5	normale	Blutkörp.	(10 Proz.)	0
2	0,35 F.S. I	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0
3	0,35 Norm. Ser.	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	komplett
4	0,35 NaCl	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	komplett

No.									Hämolyse nach 2h bei 37°	nach 24h Eisschrank
1	0,35 M.S. II	+ 0,25	Cobragift	(1 : 5000)	+ 0,5	normale	Blutkörp.	(10 Proz.)	0	etwas gelöst
2	0,35 F.S. II	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0
3	0,35 NaCl	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	komplett	komplett
4	0,35 NaCl	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	fötale	„	(10 „)	inkomplett	komplett

No.									Hämolyse nach 2h bei 37°	nach 24h Eisschrank
1	0,35 F.S. III	+ 0,25	Cobragift	(1 : 5000)	+ 0,5	normale	Blutkörp.	(10 Proz.)	0	0
2	0,35 F.S. IV	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0
3	0,35 F.S. V	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0
4	0,35 F.S. VI	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0
5	0,35 NaCl	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	komplett	komplett

No.									Hämolyse bei 37° nach 15′	nach 30′	nach 45′	nach 60′	Hämolyse nach 12h Eisschrank
1	0,35 NaCl	+ 0,25	Cobragift	(1 : 3000)	+ 0,5	mütterl.	Blutkörp.	(10 Proz.)	0	inkpl.	kmpl.	kmpl.	komplett
2	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	„	„	„
3	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	inkpl.	inkpl.	„
4	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 3000)	+ 0,5	fötale	„	(10 „)	0	inkpl.	kmpl.	kmpl.	„
5	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	inkpl.	inkpl.	„
6	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	„	„	„
7	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 3000)	+ 0,5	normale	„	(10 „)	0	kmpl.	kmpl.	kmpl.	„
8	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	„	„	„
9	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 5000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	„	„	„
10	0,6 „				+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	0	0	0

No.									Hämolyse bei 37° nach 15′	nach 30′	nach 45′	nach 60′	Hämolyse nach 12h im Eisschrank
1	0,35 M.S. VII	+ 0,25	Cobragift	(1 : 4000)	+ 0,5	mütterl.	Blutk.	VII (10 Proz.)	0	0	0	0	zum Teil gelöst
2	0,35 F.S. VII	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	VII (10 „)	0	0	0	0	0
3	0,35 M.S. VII	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	fötale	„	VII (10 „)	0	0	0	0	z. T. schwächer wie 1
4	0,35 F.S. VII	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	VII (10 „)	0	0	0	0	0
5	0,35 M.S. VII	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	normale	„	(10 „)	0	0	0	0	zum Teil gelöst
6	0,35 F.S. VII	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	0	0	0
7	0,35 NaCl	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	mütterl.	„	(10 „)	0	inkpl.	kmpl.	kmpl.	komplett
8	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	fötale	„	(10 „)	0	„	„	„	„
9	0,35 „	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0.5	normale	„	(10 „)	0	„	„	„	„
10	0,6 „				+ 0,5	„	„	(10 „)	0	0	0	0	0

No.								Hämolyse bei 37° nach 15′	nach 30′	nach 1h	Hämolyse nach 24h im Eisschrank
1	0,35 M.S. VIII	+ 0,25	Cobragift	(1 : 4000)	+ 0,5	normale	Blutkörperchen	0	0	0	0
2	0,35 F.S. VIII	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	0	0	0	0
3	0,35 N.-Ser.	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	0	0	0	0
3	0,35 Mischser.	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	0	0	0	0
5	0,35 NaCl	+ 0,25	„	(1 : 4000)	+ 0,5	„	„	Spur	komplett	komplett	komplett

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der hämolytische Titer des Muttertieres betrug 1 : 100 (nach der Geburt so tief gesunken), derjenige des Fötus 1 : 50. Es gehen also künstlich erzeugte Ambozeptoren vom mütterlichen in den fötalen Kreislauf über.

Vor kurzer Zeit machte Bauer (Münch. med. Wochenschrift, 1909, No. 27) die Mitteilung, daß Nabelschnurblut relativ cobrahämolysehemmende Stoffe enthalte. Ich prüfte daraufhin 8 Sera, welche das überraschende Ergebnis brachten, daß sowohl das M.S. wie das F.S. die Hämolyse hemmten. Weitere Untersuchungen, ob sich in unserem Falle überhaupt Gesetzmäßigkeiten finden, sind im Gange.

Nur ein M.S. besaß geringere Hemmungskraft, und zwar sowohl gegen normale, als mütterliche Blutkörperchen.

Dagegen besitzen, wenn man aus einem Versuch den Schluß ziehen darf, die fötalen Blutkörperchen weniger Rezeptoren für das Cobragift als mütterliche. Dies ist ja aber schon dies den Befunden von Sachs und Kyes hinreichend bekannt.

Die Feststellung, daß das fötale Serum sowohl an hämolytischen, wie an bakteriziden Ambozeptoren, wie auch an Komplement weit ärmer ist, als das mütterliche Serum, verlockte zu einer Prüfung des opsonischen Gehaltes beider Sera, zumal da speziell über das fötale Serum keine Untersuchungen vorliegen. Vielleicht ließe sich — so war mein Gedankengang — durch diese Untersuchung die Frage entscheiden, ob Opsonine mit lytischem Komplement oder Komplement + Ambozeptor identisch seien, also über den Bau der Opsonine näher Aufschluß gewinnen, eine Frage, welche noch auf dem letzten Mikrobiologentag im Vordergrunde des Interesses stand, und welche bis heute noch nicht als endgültig beantwortet zu betrachten ist.

Meine zunächst gewählte Versuchstechnik war so, daß dieselben mütterlichen und fötalen Sera auf ihre Bakterizidie und ihren Opsoningehalt gegen ein und dieselben Bakterien (meistens Dysenterie) in den verschiedenen Verdünnungen geprüft wurden. Die Resultate sind in Tabelle IX zusammengeführt. Es wurde die Wrightsche Technik angewandt (Bebrütungsdauer 15 Minuten bei 37°). Die Berechnung der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IX.

	Versuch 1			Versuch 2		Versuch 3			
	Bakterizidie auf Dysent.		Freßzahl	Bakterizidie auf Dysent.	Freßzahl	Bakterizidie auf Dysent.		a) Freßzahl für Dysenterie	b) Freßzahl f. Streptokokken
	nach 3h	nach 6h		nach 4h		nach 3h	nach 6h		
M.S. konz. (Je 3 Tropfen + 1 Tropfen Dysenteriebouillon)	0	0	**2,58**	100	**2,96**	6	100	**2,94**	**4,7**
„ 1:2									
„ 1:3	0	5	**0,6**	2 600	0,4	0	3 400	**1,54**	**4,4**
„ 1:5									
„ 1:9	4 320	28 000	0,3	13 000	0,66	0	2 990	0,12	**1,6**
„ 1:14									
„ 1:19	6 900	36 000	0,26	8 400	0,48	5	2 900	0,14	**1,34**
„ 1:29	10 000	> 100 000	0,4	9 600	0,46	200	13 500	0,1	0,2
F.S. konz.	120	480	0,32	50	**2,22**	3 900	39 000	0,13	**5,25**
„ 1:2									
„ 1:3	10 400	> 100 000	0,18	50 000	**0,92**	10 600	40 000	0,22	**0,84**
„ 1:5									
„ 1:9	11 000	> 100 000	0,36	19 000	0,64	10 200	42 000	0,1	**0,68**?
„ 1:14									
„ 1:19	13 000	36 000	0,32	26 000	0,62	12 000	100 000	0,15	**0,52**?
„ 1:29	9 800	> 100 000	0,28	20 000	0,7	13 000	100 000	0,02	0,3
Bouillon	13 600	> 100 000		50 000	0,34	22 000	> 100 000		
Kontr. (Einsaat):	5 000			2 600		3 500			
	3 700			2 300		4 000			

	Versuch 4			Versuch 5			Versuch 6			Versuch 7		
	Bakterizidie auf Dysent.		Freßzahl	Bakterizidie auf Dysent.		Freßzahl	Bakterizidie auf Typhus		Freßzahl für Typhus	Bakterizidie auf Dysent.		Freßzahl für Staphylokokk.
	nach 3h	nach 6h		nach 2h	nach 4h		nach 3h	nach 24h		nach 2h	nach 4h	
M.S. konz. (Je 3 Tropfen + 1 Tropfen Dysenteriebouillon)	0	0	**1,8**	60	0	**2,36**	0	∞	**2,0**	270	900	1,8
„ 1:2				100	2	**1,28**	θ	θ		2 500	3 700	1,24
„ 1:3	0	1 560	**1,0**	1 350	70	0.92	0	0	**2,1**	1 000	3 300	1,05
„ 1:5				1 500	13 000	0,54				1 300	12 000	0,75
„ 1:9	14 600	verunglückt	0,36	1 800	41 000	0,46	0	0	0,12	3 300	14 000	0,63
„ 1:14										4 600	28 000	1,26
„ 1:19	9 200	83 000	0,16				0	0	0,08	3 900	30 000	0,87
„ 1:29	12 600	36 000	0,25				0	∞	0,12			
F.S. konz.	5 200	3 800	**0,62**?	3 700	2 700	0,74	0	0	**0,48**	5 100	23 000	1,53
„ 1:2				5 400	8 700	0,44				3 300	24 000	1,32
„ 1:3	29 000	32 000	**0,6**?	7 300	33 000	0,76	2 000	∞	**0,42**	3 000	24 000	1,08
„ 1:5				8 100	45 000	0,58				4 800	30 000	1,11
„ 1:9	18 000	30 000	**0,6**?	21 000	31 000	0,42	4 100	∞	0,04	8 700	32 000	1,2
„ 1:14										6 900	37 000	0,96
„ 1:19	8 840	29 000	0,36				4 500	∞	0,2	6 000	31 000	0,5
„ 1:29	13 000	27 000	0,4				4 600	∞	0,12	10 000	60 000	0,4
Bouillon	22 000	33 000	0,22	19 000	30 000	0,64						
Kontr. (Einsaat):	6 700			3 700			2 500			4 500		
	2 300			3 400						6 000		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

phagocytischen Zahl (phagocytic count nach Wright, absoluter Index nach Sauerbeck, am besten Freßzahl genannt) erfolgte nach Durchzählung von durchweg 100 Leukocyten.

Auf kleine Unterschiede von 0,2--0,4 lege ich in diesen Versuchen gar kein Gewicht. Daß solche Unterschiede aber doch eine Rolle spielen können, ist sicher, besonders wenn es sich um Vergleichswerte mit Spontanphagocytose handelt. Ist z. B. der Wert für Spontanphagocytose 0,1 und derjenige der Serumverdünnung 0,48 und nehmen die Werte mit der Verdünnung ab, so wird man wohl die Anwesenheit von Opsonin annehmen können. Ist aber der Wert für Spontanphagocytose z. B. 0,34 und die Werte des Serums schwanken auch in den Verdünnungen zwischen 0,5 und 0,7, so wird man ihnen keine größere Bedeutung beilegen. Diesen Punkt berücksichtigend will ich nun die einzelnen Versuche kritisch besprechen. Dort wo in der Tabelle meines Erachtens Opsonin sicher nachgewiesen ist, sind die entsprechenden Freßzahlen fettgedruckt. In Versuch 1 enthält das M.S. Opsonin, das fötale nicht, obwohl letzteres ziemlich starkes bakterizides Vermögen besitzt. Der Opsoningehalt des M.S. sinkt schon in der Verdünnung 1:3 auf ein Geringes; dagegen ist diese Verdünnung bakterizid fast so wirksam wie das konzentrierte M.S. In der nächsten geprüften Serumverdünnung sinkt Opsoningehalt und Bakterizidie auf Null.

Im zweiten Versuche sind Opsonine im M.S. und F.S. nahezu in gleicher Stärke vorhanden. Serumverdünnung 1:3 des M.S. weist noch geringe Bakterizidie, aber keinen Opsoningehalt mehr auf, während umgekehrt in Serumverdünnung 1:3 des F.S. wohl noch etwas Opsonin, aber keine bakteriziden Stoffe mehr nachweisbar sind.

In Versuch 3 enthält F.S. gar kein Opsonin und keine bakteriziden Stoffe für Dysenterie, während M.S. beide noch in der Verdünnung 1:3 aufweist. Die nächste Verdünnung wirkt zwar noch bakterizid, aber nicht mehr opsonisch. Beide Sera enthalten aber noch bis zur Verdünnung 1:19 Opsonine für Streptokokken, was sicher für eine Spezifität der Opsonine spricht.

Im vierten Versuche opsoniert das M.S. noch in der Verdünnung 1:3, wohingegen das F.S. konz. und 1:9 verdünnt

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

in der gleichen Weise, aber sehr schwach opsoniert, wenn man überhaupt auf Opsonin schließen darf. Bakterizidie tritt nur im konz. F.S. zutage.

Im fünften Versuche haben wir wieder ein opsonisch unwirksames F.S. vor uns, das aber im konzentrierten Zustande noch bakterizide Stoffe enthalten muß. Beim M.S. gehen Opsoningehalt und bakterizides Vermögen nahezu parallel.

Ganz auffallende Erscheinungen bietet der nächste Versuch (6). In der Serumverdünnung 1:9 M.S. fehlen Opsonine für Typhus, während die gleiche Verdünnung Typhusbacillen sicher abtötet. Kleine, gleiche, aber noch beweisende Freßzahlen findet man bei F.S. konz. und F.S. 1:3, während nur ersteres bakterizid wirkt.

Auf das geringe bakterizide Vermögen der in Versuch 7 geprüften Sera gegen Dysenterie und den auch in Verdünnungen starken Opsoningehalt für Staphylokokken sei als Beitrag zur Spezifität der Opsonine nur kurz hingewiesen. Dabei sind die schwankenden Zahlen wieder eine Mahnung, in der Beurteilung der Freßzahlen sehr vorsichtig zu sein.

Das Hauptergebnis der Prüfung obiger Reihen also ist: Es besteht nicht immer ein Parallelismus zwischen bakterizider und opsonischer Kraft eines Serums. Wir finden namentlich bei Betrachtung der Serumverdünnungen bakterizide Sera ohne nachweisbaren Opsoningehalt und umgekehrt opsonisch wirksame Sera ohne Bakterizidie.

Trotzdem kann man wohl den Schluß ziehen, daß das F.S. wie an allen anderen Schutzstoffen, so auch an Opsonin ärmer ist als das M.S. Auffallend ist dabei die Tatsache, daß sehr oft der Opsoningehalt des F.S. bis zu derselben Verdünnung nachweisbar ist wie beim M.S.

Schließlich möchte ich erwähnen, daß die Opsonine für Dysenterie in den Verdünnungen rasch abnehmen, während Fornet solche für Paratyphus noch in Verdünnungen von 1:10000 nachgewiesen haben will.

In der folgenden Tabelle X ist der Komplementgehalt der Sera bezüglich Bakterizidie ausgewertet und dieselben Sera in einfachen Verdünnungen auf Opsoningehalt geprüft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle X.

No.		Versuch 8 Bakterizidie n. 2h	Versuch 8 Bakterizidie n. 6h	Versuch 8 Freßzahl für Dys.	Versuch 9 Bakterizidie n. 2h	Versuch 9 Bakterizidie n. 5h	Versuch 9 Freßzahl für Dys.	Versuch 10 Bakterizidie n. 2h	Versuch 10 Bakterizidie n. 5h	Versuch 10 Freßzahl für Dys.
1	M.S. konz. 3 Trpf. + 1 Tropfen Dysenterie-Bouillon	110	0	**4,84** (M.S. 1:3 **1,9**)	1 040	0	**7,0** (M.S. 1:1 = **4,95**, 1:3 = **1,6**)	0	0	**4,35** (M.S. 1:1 = **3,9**, 1:3 = **2,85**)
2	„ 1:5 3 „	10	1	**0,6**	0	0	**2,0** (M.S. 1:7 = **1,05**)	5	29	**1,3** (M.S. 1:7 = **0,7**)
3	„ 1:11 3 „	25	40	0,2	35	910	**0,45** (M.S. 1:15 = 0,2)	2	4	0,3 (M.S. 1:15 = 0,24)
4	„ 1:23 3 „	1 040	65 000	0,2	9 100	39 000	0,24	10 400	65 000	0,2
5	„ 1:47 3 „	6 370	78 000	0,2	9 360	52 000	0,16	25 000	55 000	0,2
6	F.S. konz. 3 „	1 560	52 000	**0,44**	11 400	19 500	**0,88**	12 800	45 000	0,25
7	„ 1:2 3 „	5 460	68 000	**0,44** (F.S. 1:3 **0,44**)	12 480	26 000	**0,36** (F.S. 1:3 = **0,4**)	14 000	52 000	0,3 (F.S. 1:3 = 0,2)
8	„ 1:8 3 „	5 800	35 000	0,24	19 000	52 000	0,16	26 000	70 000	0,24
9	„ 1:11 3 „	9 800	70 000	0,16	19 200	58 000	0,08	23 000	65 000	0,15
10	„ 1:23 3 „	13 000	60 000	0,15	23 400	62 000	0,12	25 000	100 000	0,2
11	„ 1 Trpf. + 2 Trpf. inakt. I.-S. 1: 1 000	3 100	62 000	(NaCl 0,1)			(NaCl 0,28)			(NaCl 0,36)
12	„ 1 „ + 2 „ „ „ 1:10 000	47	30		8 970	52 000		6 500	12 000	
13	„ 1:2 + 2 „ „ „ 1: 1 000	5 700	39 000							
14	„ 1:2 + 2 „ „ „ 1:10 000	1 500	60 000		7 800	32 000		1 690	32 000	
15	„ 1:3 + 2 „ „ „ 1: 1 000	6 760	39 000							
16	„ 1:3 + 2 „ „ „ 1:10 000	4 940	58 000		16 000	50 000		10 600	40 000	
17	„ 1:7 + 2 „ „ „ 1: 1 000	5 460	19 000							
18	„ 1:7 + 2 „ „ „ 1:10 000	3 510	65 000		17 000	60 000		17 100	43 000	
19	M.S. 1:1 + 2 „ „ „ 1:10 000				0	15		25	37	
20	„ 1:3 + 2 „ „ „ 1: 1 000	1 000	17							
21	„ 1:3 + 2 „ „ „ 1:10 000	22	0		0	3		1 560	1 000	
22	„ 1:7 + 2 „ „ „ 1: 1 000	5 300	16 000							
23	„ 1:7 + 2 „ „ „ 1:10 000	55	80		10 400	52 000		19 000	52 000	
24	„ 1:15 + 2 „ „ „ 1: 1 000	4 160	26 000							
25	„ 1:15 + 2 „ „ „ 1:10 000	1 820	65 000		13 700	60 000		22 000	65 000	
26	1 Trpf. Bouill. + 2 „ „ „ 1: 1 000	4 940	52 000							
27	1 „ „ + 2 „ „ „ 1:10 000	4 240	100 000		26 000	100 000				
28	3 „ „	5 330	100 000		25 000	100 000		26 000	100 000	
		Einsaat: 6240 9400			Einsaat: 10 400 11 000			Einsaat: 9100 7800		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Dort wo Opsonin nachweisbar ist, sind die Freßzahlen wieder fett gedruckt. In Versuch 8 wirkt das M.S. bis zur Serumverdünnung 1:2 opsonisch, die nächste Verdünnung ist wenig wirksam. Komplement ist aber noch in der Verdünnung 1:23 vorhanden, wie der Ausfall des bakteriziden Versuches in No. 23 zeigt (1 Tropfen M.S. 1:7 entspricht 3 Tropfen 1:23). F.S. wirkt sehr schwach opsonisch, und zwar in gleicher Stärke, ob es konzentriert, 1:2 oder 1:3 verdünnt wurde. Komplement konnte nur im F.S. 1:2 nachgewiesen werden.

Im nächsten Versuche opsoniert das M.S. stark, und zwar noch bis zur Verdünnung 1:11 (hier nur schwach). In der gleichen Verdünnung muß noch Komplement vorhanden sein, wie No. 3 und 21 des Versuchs lehren. F.S. scheint vollständig des Komplementes zu ermangeln, dagegen Opsonin bis zur Verdünnung 1:3 zu enthalten. (Gerade hier muß man bei der Beurteilung der Freßzahlen stets die Spontanphagocytose in NaCl berücksichtigen.)

In Versuch 10 enthält das M.S. Komplement noch in der Verdünnung 1:11 (No. 3 und 20, welche sich im Komplementgehalt entsprechen), opsonisch wirkt nur noch Verdünnung 1:7. Das F.S. scheint gar kein Opsonin zu enthalten, obwohl ein geringer Komplementgehalt nach No. 13 wahrscheinlich ist.

Sprechen alle bisherigen Versuche teils mehr, teils weniger für eine Verschiedenheit an Opsonin und bakteriziden Schutzstoffen im ganzen und Komplement im besonderen, so wird diese Tatsache vollends bewiesen durch den Ausfall folgender zwei Versuche (siehe Tabelle XI).

Der eine Versuch zeigt (wenigstens in den geprüften Verdünnungen) bakterizid unwirksame Sera mit starkem Opsoningehalt bis zur Verdünnung 1:11; der zweite Versuch führt uns stark bakterizide Sera mit fast absolut mangelndem Opsoningehalt vor Augen.

Ich möchte mich daher, ohne den Satz auf alle Bakterien ausdehnen zu wollen, beim Ruhrbacillus für eine Verschiedenheit von Opsoninen und bakteriziden Stoffen bezw. Komplement aussprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XI.

Versuch 12.

		Bakterizidie nach 2h	Bakterizidie nach 4h	Freßzahl für Dys.	
M.S. 1:11 3 Trpf.	1 Tropfen Dysenterie-Bouillon	20 800	15 600	M.S. konz.	5,32
„ 1:23 3 „		39 000	40 000	„ 1:3	5,32
„ 1:47 3 „		22 000	52 000	„ 1:7	3,04
F.S. konz. 3 „		14 300	27 000	„ 1:11	1,28
„ 1:2 3 „		14 000	19 000	„ 1:15	0,24
„ 1:8 3 „		18 000	36 000	„ 1:23	0,12
„ 1:11 3 „		19 000	39 000	F.S. konz.	3,48
„ 1:23 3 „		37 000	52 000	„ 1:2	2,72
F.S. 1 Trpf. + 2 Trpf. inakt. I.-Ser. 1:10 000		20 800	27 000	„ 1:3	2,8
„ 1:2 + 2 „ „ „ 1:10 000		29 000	23 000	„ 1:7	1,0
„ 1:2 + 2 „ „ „ 1:10 000		32 000	39 000	„ 1:11	0,16
„ 1:7 + 2 „ „ „ 1:10 000		26 000	65 000	„ 1:24	0,16
M.S. 1:7 + 2 „ „ „ 1:10 000		19 500	41 000	NaCl	0,28
„ 1:15 + 2 „ „ „ 1:10 000		26 000	65 000		
1 Trpf. Bouill. + 2 „ „ „ 1:10 000		39 000	100 000		
3 „ „	+	52 000	> 100 000		
		Einsaat: 16 300 12 400			

Versuch 13. Bakterizidie gegen Dysenterie.

	1 Normalöse enthielt nach 2h	1 Normalöse enthielt nach 4h	Freßzahl für Dys.	
M.S. 1:5 3 Trpf. + 1 Trpf. Dys.-Bouill.	0	0	M.S. konz.	0,32
„ 1:11 3 „ + 1 „ dgl.	0	0	„ 1:3	0,48
„ 1:23 3 „ + 1 „ „	0	0	„ 1:5	0,32
F.S. konz. 3 „ + 1 „ „	8	0	„ 1:7	0,32
„ 1:2 3 „ + 1 „ „	20	25	„ 1:11	0,1
„ 1:8 3 „ + 1 „ „	50	80	„ 1:23	0,1
			F.S. konz.	0,25
„ 1:11 3 „ + 1 „ „	27	200	„ 1:2	0,2
3 Trpf. Bouill. 3 „ + 1 „ „	80	500	„ 1:3	0,25
	sofort: 20 15		„ 1:8	0,2
			„ 1:11	0,2
			M.S. 58°	0,15
			F.S. 58°	0,15
			NaCl	0,2

Ueber die komplexe Natur der Opsonine ist viel gestritten worden. Zum Studium gerade dieser Frage habe ich folgende Versuche angestellt, nachdem ich bereits vorher unzählige

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mal feststellen konnte, daß inaktiviertes Serum keinen oder nur geringen Opsoningehalt aufweist (Tabelle XII).

Tabelle XII.

Versuch vom 28. November.

	Bakterizidie auf Dysent. nach 2ʰ	Bakterizidie auf Dysent. nach 4ʰ	Phagoc.-Zahl f. Dysent.
M.S. konz. 3 Trpf. + 1 Trpf. Dysenteriebouillon Einsaat 7600—4800	3	0	**7,7**
„ 1:2 3 „	110	200	**0,74**
„ 1:9 3 „	3 100	10 000	0,34
„ 1:19 3 „	4 800	26 000	0,58
„ 56° 3 „	2 100	6 100	0,46
„ 56° 1:2 3 „	1 900	16 000	0,62
„ 56° 1:9 3 „	2 800	17 000	0,32
F.S. konz. 3 „	220	220	**2,95**
„ 1:2 3 „	2 200	23 000	**0,95**
„ 1:9 3 „	7 900	21 000	0,2
„ 1:19 3 „	6 700	30 000	0,14
„ 56° 3 „	7 300	27 000	0,38
„ 56° 1:2 3 „	8 200	22 000	0,2
„ 56° 1:9 3 „	15 700	18 000	0,12
Bouillon 3 „	16 600	40 000	0,1
F.S. 2 Trpf. + 1 Trpf. M.S. 56°	110	120	**1,8**
„ 2 „ + 1 „ F.S. 56°	900	2 800	**1,24**
„ 1 „ + 2 „ M.S. 56°	2 700	2 000	**1,42**
„ 1 „ + 2 „ F.S. 56°	1 200	19 000	0,33
„ 2 „ + 1 „ M.S. 56° 1:2	1 500	2 200	**1,7**
„ 2 „ + 1 „ F.S. 56° 1:2	400	3 300	**2,44**
M.S. 2 „ + 1 „ F.S. 56°	400	100	**4,88**
„ 2 „ + 1 „ M.S. 56°	12	0	**7,54**
„ 1 „ + 2 „ F.S. 56°	80	200	**1,94**
„ 1 „ + 2 „ M.S. 56°	600	900	**7,06**
„ 2 „ + 1 „ F.S. 56° 1:2	25	17	**7,52**
„ 2 „ + 1 „ M.S. 56° 1:2	3	2	**5,66**
1 Trpf. M.S. 1:3 + 2 Trpf. F.S. 56°	2 400	8 700	**0,88**
1 „ „ 1:3 + 2 „ M.S. 56°	1 800	3 600	**1,48**
1 „ F.S. 1:3 + 2 „ „ 56°	3 200	7 200	**0,88**
1 „ „ 1:3 + 2 „ F.S. 56°	6 100	15 000	0,24
1 Trpf. M.S. + 1 Trpf. M.S. 56° + 1 Trpf. NaCl	220	600	**2,84**
1 „ „ + 1 „ „ 56° 1:2 + 1 Trpf. NaCl	600	2 500	**0,98**
1 „ „ 1:6 + 2 Trpf. M.S. 56°	4 300	4 600	0,32
1 „ „ 1:6 + 1 „ „ 56° + 1 Trpf. NaCl	4 300	2 800	0,56
1 „ „ 1:6 + 1 „ „ 56° 1:2 + 1 Trpf. NaCl	2 100	6 000	0,2

Diese Versuche sind mit aller erdenklichen Sorgfalt und Genauigkeit ausgeführt, die Freßzahlen sind das Ergebnis

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Zählung von je 200 Leukocyten von zwei Untersuchern getrennt gezählt. Der Versuch zeigt folgende Tatsachen: M.S. konz. ist stark bakterizid und stark opsoninhaltig, M.S. 1 : 2 stark bakterizid und sehr wenig opsoninhaltig, F.S. konz. stark bakterizid, mäßig opsoninhaltig, M.S. 56° minimal bakterizid und minimal opsoninhaltig, F.S. 56° nicht bakterizid und minimal opsoninhaltig. Durch Ergänzung der opsonisch wenig wirksamen Komplementmenge von M.S. 1 : 2 (im Versuch M.S. 1 Tropfen) durch kaum wirksames inaktiviertes M.S. werden Werte erreicht, die der Wirkung des konzentrierten M.S. gleichkommen. Eine wenn auch nicht so starke komplexe Wirkung ist in der Kombination M.S. 1 : 3 + 2 Tropfen M.S. 56° vorhanden. Noch schwächer ist die Reaktivierung des F.S. durch M.S. 56°, obgleich sie auch hier deutlich ist (1,42 gegen 0,95 + 0,46).

Es dürfte somit der sichere Nachweis erbracht sein, daß wir es in diesem Falle wenigstens mit einem komplex gebauten Normalopsonin zu tun hatten. Es ist damit aber durchaus nicht gesagt, daß wir es nun mit Komplement und Ambozeptor zu tun haben. Der Versuch, die komplexe Natur der Opsonine mittelst inaktivierten Immunserums nachweisen, scheiterte vorläufig an der störend auftretenden Agglutination.

Zusammenfassung.

1) Die bakterizide Kraft des fötalen Serums ist immer geringer als die des mütterlichen Serums.

2) Diese Erscheinung beruht auf einem geringeren Gehalt an Komplement und Ambozeptor. Ausnahmsweise scheint der Ambozeptorengehalt annähernd gleich zu sein. Es liegen also hier Verhältnisse vor, nicht ganz gleich denen von Moro für die Hämolyse gefundenen.

3) Durch einstündiges Erhitzen auf 55—58° werden nicht alle Sera inaktiviert. (Dies gilt für das bakterizide Komplement.) Zusatz von inaktivem unwirksamen zu wirksamem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aktiven Serum kann dessen bakterizides Vermögen beeinträchtigen (Hemmungskörper).

4) Cobrahämolysehemmende Substanzen findet man nicht nur im fötalen, sondern auch im mütterlichen Serum.

5) Der Opsoningehalt des mütterlichen Serums ist durchgehends größer als der des fötalen.

6) Normalopsonine sind nicht identisch mit den bakteriziden Stoffen, auch nicht mit Komplement allein.

7) Manche Normalopsonine sind komplexer Natur, also analog der Verbindung Komplement—Ambozeptor, ohne daß damit eine Identität bewiesen wäre.

8) Opsonine sind spezifisch für Ruhrbacillen und Streptokokken.

9) Bei der Beurteilung des Opsoningehaltes ist auf die starke Schwankung der Freßzahlen bei Spontanphagocytose Gewicht zu legen.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Peut-on utiliser Mus rattus et M. decumanus pour le diagnostic des taches de sang par le procédé d'anaphylaxie?

Note de **B. Galli-Valerio.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. März 1910.)

Dans une série de travaux précédents[1]), jai démontré l'utilisation qu'on peut faire de M. rattus et de M. decumanus pour des expériences de laboratoire, surtout au point de vue de la rage et de l'étude des corps de Guarnieri. Grâce à l'appareil que jai fait construire[2]), il est possible de fixer sûrement et avec la plus grande facilité ces animaux, pour pratiquer des inoculations, même dans le système nerveux central. Je me suis donc demandé s'il n'était pas possible d'utiliser M. rattus et M. decumanus pour le diagnostic des taches de sang par le procédé de l'anaphylaxie. Comme on sait, Arthus[3]) affirmait en 1903 avoir obtenu chez le rat (quel rat?) des phénomènes d'anaphylaxie sous l'influence d'injections répétées de sérum de cheval. Frey[4]) n'a pas pu anaphylactiser les souris, Doerr[5]) affirme aussi qu'il a en vain cherché à anaphylactiser les souris blanches.

Trommsdorff[6]) dit que ni les souris ni les rats ne peuvent être anaphylactisés, et enfin Uhlenhuth et Weidanz[7]) placent souris et rats parmi les animaux qu'on ne

1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., Bd. 40, 1905, p. 197; Bd. 42, 1906, p. 203; Bd. 50, 1909, p. 318; Bd. 46, 1908, p. 31.

2) Idem, Orig., Bd. 40, 1905, p. 197.

3) C. R. Soc. biol., 1903, No. 22, p. 817.

4) Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern, 1908, Heft 1.

5) In Kraus und Levaditi, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung. Jena 1909, p. 866.

6) Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 44, 1909, Beilage, p. 152.

7) Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Jena 1909, p. 179.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

peut pas anaphylactiser. Il était donc intéressant de voir, comment se comportaient M. rattus et M. decumanus, dans le diagnostic des taches de sang par l'anaphylaxie. Thomsen[1]) a démontré que si l'on inocule des cobayes dans la cavité péritonéale avec une dilution dans de la solution de NaCl à 0,90 % de la tache suspecte, et 14 jours après, aussi dans le péritoine avec 5 c. c. de sérum chauffé 15'—45' à 56°, sérum provenant de la même espèce animale qui a fourni la tache, ces cobayes présentent les phénomènes typiques de l'anaphylaxie. Ce même résultat, il l'a obtenu en pratiquant la 2e inoculation, non plus avec le sérum, mais avec les globules rouges lavés (1—5 c. c.) dilués dans de la solution physiologique et chauffés $^3/_4$ d'heure à 56°. Ces observations ont été dans leurs lignes générales confirmées par Uhlenhuth[2]) et par Uhlenhuth et Haendel[3]).

Voici le résultat de mes expériences:

Ire Série: Dans cette première série, les animaux ont reçu la première inoculation avec une dilution dans une solution de NaCl à 0,90, d'une tache fraîche de sang de l'homme sur papier filtre, de la dimension d'1 cm.². La 2e inoculation a été faite avec du sérum de sang de l'homme chauffé 30' à 56°.

1re Exp.: 1re Inoculation dans la cavité abdominale.

1. Mus rattus de 100 gr. ($^1/_2$ c. c.)
2. Cobaye de 500 gr. (1 c. c.).

Seconde inoculation 14 jours après, respectivement avec 2 et 4 c. c. de la même. Le no. 1 ne présente aucun trouble, le no. 2 est tout de suite après fort agité, court dans la cage, perd les urines et les fèces, se couche sur le flanc en présentant des contractions. Mais il se remonte et meurt profondement amaigri 7 jours après. (Cultures du péritoine et du sang négatives.) Contrôles négatifs.

2e Exp.: 1re Inoculation dans la cavité abdominale.

1. M. rattus de 110 gr. (1 c. c.),
2. Cobaye de 480 gr. ($^1/_2$ c. c.).

Seconde inoculation 14 jours après respectivement avec 2 et 4 c. c. dans la cavité abdominale. Le no. 1. ne présente aucun trouble. Le no. 2 présente les phénomènes typiques de l'anaphylaxie, mais il ne meurt que 6 jours après, fortement amaigri (Cultures du péritoine et du sang négatives. Contrôles négatifs).

---

1) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Orig., Bd. 1, 1909, p. 741; Bd. 3, 1909, p. 539.

2) Idem, Orig., Bd. 1, 1909, p. 770.

3) Idem, Orig., Bd. 4, p. 761.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3° Exp.: Première inoculation dans la cavité abdominale.
1. M. decumanus de 150 gr. ($^1/_2$ c.c.),
2. M. musculus de 30 gr. ($^1/_2$ c.c.),
3. Cobaye de 350 gr. (1 c.c.).

Seconde inoculation 20 jours après respectivement avec 2, 1 et 5 c.c. dans la cavité abdominale. Les nos. 1 et 2 ne présentent aucun symptôme, le no. 3 présente des symptômes anaphylactiques, mais il se remonte complètement. Contrôles négatifs.

4° Exp.: Première inoculation dans la cavité abdominale.
1. M. decumanus de 100 gr. ($^1/_2$ c.c.),
2. M. decumanus de 100 gr. ($^1/_2$ c.c.),
3. M. decumanus de 110 gr. ($^1/_2$ c.c.),
4. M. decumanus de 100 gr. ($^1/_2$ c.c.),
5. Cobaye de 260 gr. (1 c.c.),
6. Cobaye de 255 gr. (1 c.c.).

Seconde inoculation 16 jours après, respectivement avec 1 c.c. (M. decumanus) et 4 c.c. (Cobaye no. 5), dans la cavité abdominale. Les nos. 1, 2, 3, 4, ne présentent aucun symptôme. Le no. 5 présente les symptômes anaphylactiques et meurt le soir. Contrôles négatifs, ainsi que le cobaye de 255 gr. inoculé avec 4 c.c. de sérum de lapin chauffé $^1/_2{}^h$ à 56°. Les rats 1, 2, 3, 4, ont reçu 15 jours après une inoculation intracérébrale de $^8/_{10}$ de c.c. de sérum de sang de l'homme chauffé $^1/_2{}^h$ à 56°, sans présenter de troubles. 15 jours après cette 2° inoculation ils en ont reçu une autre identique aussi sans présenter de troubles. Il n'y a que le no. 3 qui est mort par accident opératoire (compression du corset).

5° Exp.: Première inoculation dans la cavité abdominale.
1. M. rattus de 150 gr. (1 c.c.),
2. M. rattus de 110 gr. (1 c.c.),
3. M. rattus de 130 gr. (1 c.c.),
4. M. rattus de 100 gr. (1 c.c.),
5. Cobaye de 300 gr. (1 c.c.).

Seconde inoculation 15 jours après dans le cerveau, tous avec $^8/_{10}$ de c.c. Seul le no. 5 présente immédiatement après, des symptômes anaphylactiques très graves, et succombe quelques instants après. Contrôles négatifs.

II° Série. Dans cette seconde série, les animaux ont reçu la première inoculation comme dans la 1re Série, tandis que la 2° a été faite avec une dilution de globules rouges (5 cc.) de l'homme lavés et chauffes 30′ à 56°.

1° Exp.: Première inoculation dans la cavité abdominale.
1. M. decumanus de 150 gr. ($^1/_2$ c.c.),
2. Cobaye de 350 gr. (1 c.c.).

Seconde inoculation 18 jours après respectivement avec 2 et 4 cc. dans la cavité abdominale. Le no. 1 ne présente rien, le no. 2 présente immédiatement des phénomènes très forts d'anaphylaxie et meurt $^1/_2{}^h$ après. Contrôles négatifs.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

De ces quelques expériences, il résulte que: en tous cas par la technique que j'ai suivie, il m'a toujours été impossible de provoquer l'anaphylaxie chez M. rattus et M. decumanus et dans un cas chez M. musculus, si de 14 à 20 jours après la première inoculation dans la cavité abdominale avec un extrait de tache de sang de l'homme, je les ai inoculés dans la cavité abdominale ou dans le cerveau, avec du sérum ou des globules rouges du sang de l'homme chauffés à 56°. Par ce même procédé au contraire, j'ai pu provoquer l'anaphylaxie chez le cobaye. Mes expériences donc confirment celles des Frey, Doerr, Trommsdorff, Uhlenhuth et Weidanz, sur l'impossibilité d'anaphylactiser souris et rats.

Zusammenfassung.

M. rattus, M. decumanus und wahrscheinlich auch M. musculus können nicht für die biologische Blutdifferenzierung mit der Methode der Anaphylaxie verwendet werden, weil man sie nicht überempfindlich machen kann.

Lausanne, 4. März 1910.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3698

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. V. No. 6.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Die Verbreitung des Piroplasma canis im Organismus infizierter und mit Arsenpräparaten behandelter Hunde.

Von Dr. **Edgar Goldschmid.**

Mit 1 Tafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Februar 1910.)

Im nachstehenden soll über die durch Piroplasma canis erzeugten pathologisch-anatomischen Veränderungen berichtet werden. Die auf Veranlassung von Herrn Professor Friedberger angestellten Untersuchungen schließen sich an experimentell-therapeutische Versuche an, die hier im Institut von Herrn Dr. Jakimoff ausgeführt wurden, aber zum großen Teil schon abgeschlossen waren, als ich die Arbeit übernahm. Daher stehen mir nur wenige eigene Sektionen zur Verfügung, für die übrigen bin ich auf die Mitteilungen Herrn Dr. Jakimoffs angewiesen. Eine größere Anzahl von Hunden ist jedoch histologisch untersucht worden. Meine Untersuchungen beschränken sich auf die anatomischen Veränderungen mit Ausnahme des Blutbildes, da dieses fortlaufend von Herrn Dr. Jakimoff untersucht wurde, der selbst darüber berichten wird.

Seit der Entdeckung des Piroplasma als Erreger der bis dahin unter verschiedenen Namen gehenden Krankheit der Hunde durch Piano und Galli-Valerio im Jahre 1895 ist eine ganze Reihe von Arbeiten erschienen, die sich aber hauptsächlich mit Klinik und Parasitologie der Hundepiroplasmose befassen. Für alles, was den Parasiten, seine Entwicklung, Ueberträger usw. anlangt, kann ich daher auf diese Arbeiten verweisen. Die anatomischen Angaben sind meist dürftig, sogar dann, wenn genaue klinische Notizen vorliegen.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Am eingehendsten wird die pathologische Anatomie noch bei Nocard et Motas, bei Robertson und Hutcheon behandelt — die Befunde, die sich in den zahlreichen Veröffentlichungen über Piroplasmose der Pferde, Rinder, Schafe finden, sind ja nicht ohne weiteres zu verwerten. Zusammenfassungen der verschiedenen Befunde bringen Claus Schillings (in Kolle-Wassermanns Handbuch) und Nutall und Graham-Smith im Journal of Hygiene. Von besonderem Interesse ist die vergleichende Tabelle, die Nutall aufstellt, um die Ergebnisse einander näher zu bringen, die bis dahin je nach dem Untersuchungsort — Südafrika, Italien, Frankreich — recht verschieden ausgefallen waren. Ich werde weiter unten versuchen, diese Nuttallsche Tabelle noch durch unsere Befunde zu erweitern, die mit russischem Virus gewonnen wurden, das wir der Freundlichkeit des Herrn Professor A. A. Wladimiroff in Petersburg verdanken.

Die einzige größere Arbeit über die pathologische Anatomie der Hundepiroplasmose, die, so weit ich aus der Literatur ersehen kann, existiert, ist die schon oben erwähnte von Nuttall und Graham-Smith. Außer durch genaue Sektionen und histologische Untersuchungen ist diese Arbeit durch eingehende Studien über die Anzahl der vorhandenen Parasiten ausgezeichnet, die Zahl der infizierten Blutkörperchen, das Verhältnis der Erythrocyten, die nur ein, zwei und mehr Piroplasmen beherbergen. Graham-Smith sucht für jedes Organ und Gewebe die Zahl der Parasiten prozentual zu ermitteln und vergleicht sie mit dem Befund der Blut- und Organausstriche.

Da unsere Befunde die von Nutall und Graham-Smith zum Teil erweitern, zum Teil ergänzen, so seien die Resultate dieser Autoren hier in aller Kürze wiedergegeben.

Graham-Smith schreibt (p. 264—265):

„In der vorliegenden Reihe akuter Fälle waren bei der Autopsie keine konstanten Befunde zu erheben. Histologisch fand sich, daß die Blutgefäße der Organe erweitert waren und eine große Anzahl von Leukocyten enthielten. In der Mehrzahl der Fälle wurden Parasiten in großer Zahl in den kleinen Kapillaren gesehen; ein hoher Prozentsatz der roten Blutkörperchen war infiziert. In den größeren Gefäßen enthielt eine viel geringere Zahl von Blutkörperchen Parasiten, und diese fanden sich gewöhnlich nahe der Peripherie des Gefäßes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Blutkörperchen mit mehr als vier Parasiten fanden sich in der größten Anzahl im Gehirn, den Lymphdrüsen, dem Knochenmark. Es ist daher wahrscheinlich, daß die Vermehrung innerhalb der Blutkörperchen der Kapillaren dieser Organe schneller vor sich geht als an anderen Orten.

Die Leber zeigte Veränderungen, die hauptsächlich auf den Druck der erweiterten Kapillaren zurückzuführen sind, und die Lungen waren in den meisten Fällen in einem der Bronchopneumonie ähnlichen Zustand.

Phagocytose war häufig in einigen Fällen wenige Tage vor dem Tode, und kernhaltigen roten Blutkörperchen begegnete man häufig in der peripheren Zirkulation gegen das Ende der Krankheit . . .

Ueber 91 Proz. aller infizierten Zellen enthalten nur 1 oder 2 Parasiten, 98,6 Proz. 1—4 Parasiten. Gerade Zahlen von Parasiten sind vorhanden in 97,11 Proz. aller infizierten Zellen, die mehr als einen Parasiten enthalten, ungerade Zahlen nur in 2,88 Proz.

Freie Parasiten finden sich am häufigsten in Lungenabstrichen, dann in Gehirn-, Lymphdrüsen- und Leberabstrichen, weniger häufig in Abstrichen anderer Organe. Stets sind sie weniger häufig im peripheren Kreislauf . . .

Der bei der Sektion aus der Blase entnommene Urin war zuerst sehr dunkel und enthielt Albumen, Gallensalze, Blutpigment und — bei männlichen Hunden — Spermatozoen."

Ueber das „Aussehen bei der Autopsie" schreibt der gleiche Autor p. 254 und 256: Magen und Darm fanden sich leer; das Rectum mit hellgelben Faeces. In 5 Fällen fand er keine makroskopischen Veränderungen, einmal Lungenödem. Ferner fand er wenige Petechien in Magen und Netz. Hier sei auch erwähnt, daß er in einem Falle (mit Stauung der Nieren und Nebennieren und großer Milz) zwei „lymphomatöse Tumoren" sah.

Ueber den gleichen Gegenstand sagt Nuttall (l. c., p. 235): „Die Erscheinungen bei der Autopsie sind bei natürlich und experimentell infizierten Hunden identisch. Bei Hunden, die am akuten Typus eingehen, konstatieren Nocard et Motas, daß bei der Autopsie abnorme pathologische Erscheinungen völlig fehlen können. Nach diesen Autoren sind die Veränderungen am stärksten ausgeprägt in chronischen Fällen; nur der Befund in den verschiedenen Organen deutet auf die Abhängigkeit „von der äußerst starken Dilatation des Kapillarnetzes durch die darin aufgehäuften Blutkörperchen, die zum größten Teil mit Parasiten vollgestopft sind".

Robertson gibt als Hauptbefund bei der Autopsie an (p. 329, 330) die tief-ikterische Farbe der Haut- und Schleimhaut, die enorme Größenzunahme der Milz, den blutfarbigen Urin und den eigentümlichen Geruch des infizierten lebenden oder eben gestorbenen Hundes. Mikroskopisch findet er einmal in einem schweren Fall Piroplasmen frei im Blut; weiter findet er sie in Gewebsschnitten und die Hirnkapillaren verstopfend. Das meiste, was sich sonst über pathologische Anatomie findet, stimmt mit dem überein, was Nocard schreibt.

Bei chronischen Fällen fand Schilling (l. c., p. 8) bei der Sektion die Blässe der Gewebe sehr deutlich. Die Milz war auf das 3—4-fache

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vergrößert, dunkel blaurot, etwas weich; (im Ausstriche fanden sich massenhaft Parasiten). Die Leber war blutreich, die Gallenblase ausgedehnt, die Galle sirupdick, dunkel, krümelig. Die Nieren zeigten Entzündungserscheinungen und Blutungen, die Lungen waren ödematös und von Ekchymosen durchsetzt, unter dem Epi- und Endocard finden sich kleine Petechien.

Hier möchte ich zum Vergleich und zur Ergänzung kurz den Befund anführen, wie er bei anderen Tieren beschrieben wird. So findet Kossel (l. c., p. 89) bei Pferden Milzvergrößerung, die Nieren anämisch und saftreich, die abdominalen Lymphdrüsen vergrößert und von Blutungen durchsetzt, Magen und Darm mit katarrhalischen Erscheinungen.

Für die Piroplasmose der Schafe (l. c., p. 91) gibt er an: Allgemeine seröse Durchtränkung der Gewebe, namentlich der lockeren Gewebsmaschen an der Seite des Halses, des Mediastinum. Die retroperitonealen Muskeln sind blaß und brüchig, die Lymphdrüsen geschwollen. Heftige Entzündungen des Verdauungstraktus; das Rectum enthält blutuntermischten Kot, seine Schleimhaut ist ulceriert. Die Leber ist blaß und brüchig, Leberzellen sind nekrotisch, in der Nähe der Gefäße findet sich kleinzellige Infiltration. Die Nieren bieten das Bild der parenchymatösen Entzündung und kleinzelligen Infiltration; besonders gehen die Glomeruli zugrunde, so daß Blut in Kapselraum und Harnkanälchen übertritt. Ekchymosen der serösen Häute.

Bei Rindern beschreibt Collaud eine eigene „Nephritis haemorrhagica piroplasmatica", bei der er drei verschiedene Stadien unterscheidet, die sich aber gleichzeitig in einer Niere vorfinden können. Es sind dies folgende:

1. Hämorrhagien in der Niere; Transsudation ohne Kapillarruptur.
2. Die Hämorrhagien werden allmählich zu Infiltrationen, Zerstörung der roten Blutkörperchen, die Leukocyten verschwinden; es bleiben junge Bindegewebszellen und Lymphocyten. Das Kanälchenepithel wird zerstört.
3. Bindegewebswucherung.

In einer älteren Arbeit über „Die Hämoglobinurie der Rinder" gibt H. Kossel einige Bemerkungen über seine pathologischen Befunde (p. 857), die uns in diesem Zusammenhang auch interessieren. Er findet zuweilen Oedeme und ikterische Färbung des Unterhautbindegewebes; am Herzen Ekchymosen unter dem Epi- und Endocard, in selteneren Fällen auch Trübungen oder beginnende Fettentartung der Muskelfasern. Hochgradige Vergrößerung der Milz mit zerfließlicher Pulpa. Sehr charakteristische Veränderungen findet er in der Leber; sie ist vergrößert, auf der Schnittfläche von eigenartig gesprenkelter, bunter Zeichung, das Zentrum der Acini von gelblicher, die Peripherie von roter Farbe. Oft ist das ganze Organ ikterisch gefärbt. Die Gallenblase ... enthält dickflüssige Galle ... Die Nieren zeigen eine Verbreiterung und schwarzrote Färbung der Rindensubstanz ... Auf Druck lassen sie reichlich dünne rötliche Flüssigkeit austreten. Die Harnblase enthält in frischen Fällen schwarzroten Harn. Die Schleimhaut des Labmagens ist hyperämisch, zuweilen von Ekchymosen besetzt, die Mucosa der Därme hyperämisch.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die mikroskopische Untersuchung ergibt die Anwesenheit zahlreicher Parasiten, meist von runder Form, in den Kapillaren. Eigenartig ist das mikroskopische Bild von Leberschnitten. Es finden sich zuweilen Ausgüsse von Gallenkapillaren in Gestalt von blaßgelben, Y-förmigen, oder mehrfach verzweigten Gebilden. Auf Schnitten erweist sich in diesen Fällen der Raum zwischen den Leberzellen, besonders in der Mitte der Läppchen, von eingedickter Galle erfüllt . . . Erhebliche Veränderungen nur noch in den Nieren: Strotzende Blutfüllung in frischen Fällen; die gewundenen Harnkanälchen enthalten rötliche Pigmentkörnchen und sind durch Exsudatmassen verstopft.

Anschließend möchte ich noch auf eine Angabe Schillings für das Rhodesia- oder Küstenfieber hinweisen (l. c., p. 103): Er findet Infarkte der Leber, der Nieren und der Lungen, sowie hämorrhagische Beschaffender Lymphdrüsen.

Da einige von den untersuchten Hunden mit Arsenpräparaten (Arsenophenylglycin (Ehrlich) oder Atoxyl-Thioglykolsäuregemisch (Friedberger) behandelt waren, möchte ich hier noch kurz den Befund streifen, den Igersheimer und Itami bei experimenteller Atoxylvergiftung erhielten (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm., 1909, Bd. 61, 1). Die Hunde erhielten das Atoxyl in 10-proz. Lösung. Es fanden sich bei der Autopsie (u. a.) Blutungen in der Niere, und zwar in der Grenzschicht. Sie sahen keine pathologische Fettvermehrung. Die Epithelien der geraden Harnkanälchen waren „stark degeneriert". Im Herzen fanden sie „stellenweise sehr viele feinste Fetttröpfchen (pathologisch?)". Alles dies bei akuter Vergiftung mit 2mal je 0,1 subkutan (p. 20). Bei chronischer Vergiftung (die Tiere erhielten über einen Monat täglich 0,05 g Atoxyl) fand sich eine starke Verfettung der Nierenepithelien in Rinde und Mark; die Glomeruli waren frei; im Herzen sehr ausgesprochene Verfettung.

Zu unseren Untersuchungen wurden im ganzen 25 Hunde verwendet, die in der folgenden Tabelle näher aufgeführt sind. Drei davon habe ich selbst seziert, von 15 habe ich die konservierten Organe kontrolliert, 9 habe ich histologisch untersucht. Was die Technik anlangt, so habe ich folgendes Verfahren eingeschlagen:

Die Hunde wurden möglichst sofort nach dem Tode seziert, zur bakteriologischen Kontrolle wurde Blut aus dem Herzen (linker Ventrikel) entnommen, Stückchen der Organe in Formol (10 Proz. der käuflichen Lösung) und Alkohol eingelegt. Von den frischen Organschnitten wurden Abstriche gemacht und mit den Blutausstrichen (die während des Lebens und die post mortem gewonnen waren), verglichen. Die besten Resultate erhielten wir mit Formolfixierung. Nieren und Leber wurden in frischen Zupfpräparaten untersucht, die Organe, in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

denen Verfettung zu erwarten war, auf dem Gefriermikrotom geschnitten und mit Fettponceau (nach Herxheimer) gefärbt und mit Eisenhämatoxylin gegengefärbt. Alle Organe wurden dann in der üblichen Weise in Paraffin eingebettet. Zur Orientierung über die pathologischen Veränderungen wurden die Schnitte mit Eisenhämatoxylin-van Gieson nach Weigert gefärbt, weiter noch mit Hämalaun, Hämatoxylin-Eosin und nach Giemsa (s. unten).

Zur Darstellung der Parasiten im Schnitt habe ich alle empfohlenen Methoden durchprobiert und die Giemsafärbung nach Sternberg am sichersten gefunden. Auch die Leishmanfärbung gibt gute Resultate, wenn ich auch von der umständlichen Vorschrift, die der Autor (Journal of Hygiene, Vol. 4, 1904, p. 434 ff.) gibt, keine Vorteile vor anderen, einfacheren Verfahren gesehen habe. Entgegen der öfters in den Publikationen wiederkehrenden Behauptung, daß die Piroplasmen sich mit Hämatoxylin nicht färben, habe ich gefunden, daß sie sich mit dem oben genannten Weigertschen Eisenhämatoxylin stets darstellen ließen, so daß diese Methode eine gute Kontrolle der Sternbergschen Färbung ergab. Natürlich erreichen diese Bilder nicht die Brillanz der Giemsafärbung, aber sie haben den Vorteil, daß die Gewebsbestandteile gleichzeitig dargestellt werden, worauf man bei der Giemsafärbung verzichten muß.

Für Blutausstriche und Organausstriche wurde die gewöhnliche Giemsafärbung und eine „panoptische" Kombination dieser mit der May-Grünwald-Methode angewandt, die mir Jakimoff mitteilte. Die von Pappenheim publizierte „panoptische Färbung" (Med. Klinik, 1908, No. 32) wurde mir zu spät bekannt. Für die Sternbergsche Färbung hielt ich mich genau an die vom Autor gegebene Vorschrift (Centralbl. f. Pathol. u. pathol. Anat., Bd. 16, 1905, p. 293). Die Giemsa-May-Grünwaldfärbung wurde nach Jakimoffs Angabe folgendermaßen vorgenommen:

1) Fixieren der lufttrockenen Ausstriche mit Methylalkohol	5 Minuten
2) Färben in folgender Lösung (1—1½ Stunden):	
Giemsalösung	50 Tropfen
May-Grünwaldlösung	5 ccm
Aq. destill.	50 ccm

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3) Abspülen in gewöhnlichem Wasser,
4) Differenzieren in Alkohol (94-proz.),
5) Abspülen in gewöhnlichem Wasser.

Bei gewöhnlicher Giemsafärbung wurden Ausstriche 3 bis 4 Stunden in einer Lösung von 1 Tropfen „Giemsalösung für Romanowskyfärbung" (Grübler) auf 1 ccm destillierten Wassers gefärbt, in Alkohol kurz differenziert und mit Wasser abgespült.

Tabelle der von uns behandelten und untersuchten Hunde.

No.	Geimpft am	1. Auftreten der Parasiten im Blut	Tod am	Behandelt oder Kontrolltier	Bemerkungen
1	18. VI.	24. VI.	29. VI.	Kontrollhund	Untersucht
2	7. VI.	10. VI.	23. VI.	Arsenophenylglycin	„
3	12. VI.	17. VI.	25. VI.	Kontrollhund	„
4	19. VI.	25. VI.	5. VII.	Arsenophenylglycin	„
5	5. VI.	7. VI.	lebt	—	—
6	9. VI.	24. VI.	26. VI.	Kontrollhund	—
7	„	24. VI.	26. VI.	Arsenophenylglycin	—
8	„	26. VI.	26. VI.	Kontrollhund	—
9	„	23. VI.	24. VI.	„	—
10	„	23. VI.	26. VI.	Arsenophenylglycin	—
11	19. VI.	5. VII.	8. VII.	Ac. Thioglycolic. + Atoxyl	Untersucht
13	„	23. VI.	25. VI.	Kontrollhund	„
14	„	24. VI.	29. VI.	Arsenophenylglycin	„
15	9. VII.	13. VII.	14. VII.	Kontrollhund	„
17	14. VII.	21. VII.	lebt	Kontrollhund	
18	24. VII.	lebt			—
21	24. VII.	28. VII.	lebt	Kontrollhund	—
22	24. VII.	28. VII.	lebt	„	Geimpft mit Blut, das seit 29. VI. im Frigo aufbewahrt war.
23	30. VII.	—	—	—	2mal injiziert, plötzlich †, nicht untersucht.
24	6. VIII.	9. VIII.	lebt	Kontrollhund	Geimpft mit Blut, das seit 29. VI. im Frigo aufbewahrt war.
25	6. VIII.	8. VIII.	10. VIII.	„	Geimpft mit Blut von 18 und 21, die zur Zeit keine Parasiten aufwiesen; untersucht.

Die Hunde wurden intraperitoneal mit 1—3 ccm Citrat-Blut infiziert, je nach Stärke der Infektion des kranken und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gewicht des zu infizierenden Hundes. Was das Detail der Infektion und der Therapie betrifft, verweise ich auf die Jakimoffsche Veröffentlichung.

Ich gebe zunächst 3 ausführliche Sektionsprotokolle.

Hund 11. Infiziert am 19. VI. Parasiten nachgewiesen am 5. VII., behandelt mit Atoxyl-Thioglykolsäure am 6. VII., tot am 8. VII. Reichliche Parasiten im Blut. Blutabgang mit Harn und Kot.

Mittelgroßer männlicher Foxterrierbastard, mager; Gewicht 6500 g. Seziert 15 Minuten post mortem.

Unterhautzellgewebe leicht grünlich gefärbt. Der Situs ohne Besonderheit. Blase stark gefüllt, kinderfaustgroß.

Milz: 3—4mal vergrößert, ziemlich derb, dunkel blaurot. Die Follikel deutlich erkennbar. Gewicht 90 g.

Leber: Von gewöhnlicher Größe und Konsistenz. Farbe dunkelrotgelb und leicht ikterisch, das Parenchym trüb. Starker Blutgehalt. Die Gallenblase über wallnußgroß, stark gefüllt mit schwarzgrüner, fast teerartiger Galle. Die Gallenwege frei. Die abdominalen Gefäße ohne Besonderheit. Gewicht (mit Galle) 425 g.

Nebennieren: o. B.

Nieren: Von gewöhnlicher Größe und Konsistenz. Die Kapsel leicht abziehbar, die Oberfläche glatt und o. B. Die Schnittfläche ist trüb und läßt die Zeichnung nicht erkennen. Gewicht 65 g.

Die ableitenden Harnwege und die Genitalien ohne Besonderheit.

Die Lungen zeigen in den Randpartien flache, eingesunkene Partien, an deren Rändern sich zahlreiche stecknadelkopf- bis erbsengroße dunkelrote Flecken finden, in deren Bereich der Luftgehalt aufgehoben ist. In Bronchen und Trachea leicht rotgefärbter Schleim. Drüsen und Halsorgane ohne Besonderheit. Gewicht 81 g.

Herz von mürber Konsistenz, das Myocard trüb und leicht gelblich. Sonst ohne Befund, ebenso die großen Gefäße.

Magen leer, die Schleimhaut blaß. Die Darmschleimhaut besonders in der Umgebung des Coecum etwas glasig und gerötet. Die mesenterialen Lymphdrüsen bis über Bohnengröße vergrößert und zum Teil zentral gerötet.

Pankreas o. B. Kot o. B.

Gehirn, Rückenmark, Knochenmark blutreich.

Anatomische Diagnose: Trübe Schwellung der Nieren, der Leber, des Myocards. Multiple petechiale Blutungen und Atelektasen der Lungen. Katarrhalische Bronchitis. Subakute Enteritis und Colitis. Stauungsorgane. Ikterus. Abmagerung.

Mikroskopische Untersuchung:

Niere: Trübe Schwellung der Epithelien der Harnkanälchen, besonders der gewundenen; Eiweißzylinder. Vereinzelt abgestoßene Epithelien im Lumen. Geringe Verfettung des Epithels besonders der gewundenen, weniger der geraden Kanälchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Große Massen von Parasiten in allen Kapillaren und Gefäßen, intraglobulär. Die Glomeruli mit Piroplasmen vollgestopft, dort zum Teil extracellulär. Ueberall die kleinen Ringformen der Parasiten, zu 1, 2 bis 8 Exemplaren. In einzelnen Kapillaren extracellulär und dann sehr reichlich (zu 6—8) zusammenliegend, jedoch zumeist nur 2 Parasiten. Im Mark weniger als in der Rinde. In großen Gefäßen oft in großer Menge randständig und in eine Ecke zusammengeschoben. Gelegentlich 16 Parasiten frei neben freiem Erythrocyten. Vereinzelte Birnformen. Kernhaltige rote Blutkörperchen.

Herz: Protoplasma trübe, Streifung nicht überall erkennbar. Die Fibrillen durchweg mit feinsten Fetttröpfchen bestäubt. Stellenweise auch größere Fetttröpfchen. Sehr reichliche Piroplasmen in Kapillaren und Gefäßen, zum Teil auch extraglobulär.

Leber: Starke Gallenfüllung der Gänge. Ausgesprochene Leukocytose in Kapillaren und Gefäßen; besonders die Kapillaren mit Leukocyten vollgestopft. Die Leberzellen ziemlich gut gefärbt, Kerne intakt. Massenhaft Parasiten besonders in den Zentralvenen; nur stellenweise gut gefärbt. Wo überhaupt, sind sie massenhaft vorhanden.

Milz: Sehr blutreich, besonders fleckweise Blutanhäufung in Randpartien. Einzelne Hämorrhagien in den Malpighischen Körperchen. Die lymphatischen Elemente ziemlich groß. Schollen braunen Pigmentes. Geringgradige Phagocytose.

Parasiten reichlich in den Gefäßen, vereinzelt extracellulär im Gewebe. Kernhaltige rote Blutkörperchen.

Lungen: Ausgedehnte Atelektasen. Fleckweise beginnende katarrhalische Pneumonie (peribronchitisch). Ausgesprochene Leukocyten. Stellenweise ödematöse Partien, Hämorrhagien. Die dunklen Flecke: stark erweiterte Kapillaren um atelektatische Alveolen; die zentralen Gefäße mit Leukocyten vollgestopft. Die Alveolen zeigen stellenweise geronnenen Inhalt (Oedem). Andere Partien zeigen größere bronchopneumonische Herde, am stärksten in der Umgebung der Bronchen, stellenweise bis unter die Pleura reichend. Die Bronchen mit schleimigem Inhalt und einigen Leukocyten. Sehr reichliche Parasiten, doch beträchtlich weniger als in der Niere. Intracellulär in Kapillaren und Gefäßen, vereinzelt frei im Gewebe. Die Kapillaren manchmal knospenartig in das Alveolarlumen vortretend.

Nebenniere auch in der Rinde sehr blutreich. Starke Leukocytose in den Gefäßen. Massenhafte Parasiten in den Kapillaren.

Darm. Die Schleimhaut stellenweise etwas gelockert, sehr blutreich, besonders auch die Zottengefäße stark gefüllt. In diesen die Parasiten zahlreich, aber nicht sehr dicht, immerhin stellenweise das ganze Lumen ausfüllend. Besonders zahlreich auch in den submukösen Gefäßen und Kapillaren.

Mesenterialdrüsen: Ziemlich blutreich (zentral). Im Zentrum geringe Schollen braunen Pigmentes, geringgradige Phagocytose. Piroplasmen in Gefäßen und Kapillaren (ließen sich hier auch gut mit Hämalaun färben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hoden: Massenhafte Parasiten in den Kapillaren und Gefäßen des Parenchyms; weniger in denen der Scheiden.

Hund 15. Infiziert am 9. VII. Parasiten im Blut nachgewiesen am 13. VII. † 14. VII. um 4 Uhr p. m., nach 6-stündiger Agone. Nicht behandelt. Reichlich Parasiten im Blut. Seziert $1^1/_2$ Stunde post mortem.

Mittelgroßer weiblicher Black and tan Terrier-Bastard; ziemlich gut genährt. Brustdrüsen etwa haselnußgroß, nicht sezernierend. Situs ohne Besonderheit. Im Herzbeutel wenige Tropfen klare gelbliche Flüssigkeit. Kaum Andeutung von Ikterus. Haut und Schleimhaut blaß. Gewicht 11—12 kg.

Milz groß, etwas derb mit dunkelroter Schnittfläche. Die Follikel stellenweise über stecknadelkopfgroß und vortretend. Gewicht 56 g.

Leber groß, dunkelrot, mürbe. Die Schnittfläche ohne deutliche Zeichnung. Blutreich. Die Gallenblase ist wallnußgroß und enthält dünnflüssige rotgelbe Flüssigkeit. Gewicht 564 g.

Die Nieren springen förmlich aus der Kapsel, sind prallelastisch und dunkelrot. Die Schnittfläche trüb und ohne deutliche Zeichnung. Blutreich. Ein weiches Gerinnsel in einer mittleren Verzweigung einer Arterie. Gewicht 76 g.

Nebennieren: ohne Besonderheit.

Die Blase fest kontrahiert, ihre Schleimhaut strichweise stark gerötet. Die Genitalien ohne Besonderheit.

Die Lungen zeigen über dem rechten Unterlappen und auch den übrigen Lappen einzelne bis linsengroße dunkelrote Flecke, die auf dem Durchschnitt blutreich und fast luftleer sind; zum Teil von etwas vermehrter Konsistenz. In den Oberlappen einzelne eingesunkene luftleere Streifchen. Gewicht 112 g.

Halsorgane und Drüsen ohne Besonderheit. In der Trachea rötlich tingierter, schaumiger Schleim.

Herz kräftig. Muskulatur trübe, das Myocard stellenweise mit stumpfgelbem Schimmer der Schnittfläche.

Gehirn und Rückenmark: ohne Besonderheit.

Knochenmark: Sehr blutreich.

Magen stark gefüllt mit Fleisch- und Knochenstücken. Darmschleimhaut im ganzen Dickdarm etwas glasig, auf der Höhe der Falten stark gerötet. Einzelne Mesenterialdrüsen vergrößert, nicht gerötet. Kot und Urin rötlich gefärbt.

Pankreas: ohne Besonderheit.

Anatomische Diagnose: Beginnende Bronchopneumonie. Trübe Schwellung von Nieren, Herz (und Leber). Verfettung des Herzens. Subakute Colitis, Lungenatelektasen und -Hämorrhagien. Stauungsorgane: Akute Piroplasmose.

Mikroskopische Untersuchung.

Niere: Hochgradige Hyperämie besonders der Rinde (beginnender Infarkt). Kleiner Entzündungsherd in der Rinde (reichliche Leukocyten und Lymphocyten). In allen Kanälchen Eiweißzylinder, in geringerem Maß auch innerhalb der Bowmanschen Kapsel. Epithel schlecht färbbar

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besonders in den hyperämischen Bezirken, Kernfärbung erhalten mit wenigen Ausnahmen. Stellenweise starke Verfettung der Epithelien der Schleifenschenkel und gewundenen Kanälchen (fein bis großtropfig). Leukocytose. Massenhaft Piroplasmen in Kapillaren, Glomerulusschlingen, großen Gefäßen. 2—4 Parasiten in den infizierten Zellen. In den Kapillaren liegen sie oft extracellulär. In den hyperämischen Partien weniger Piroplasmen als in denen mit normaler Blutversorgung. In den Randpartien der hyperämischen Zone die Blutkörperchen deutlich getrennt und mit Giemsa leuchtend rot gefärbt, die Parasiten kenntlich; weiter innen mehr ziegelrot verklebt, Parasiten nicht dargestellt.

Herz: Die Zeichnung des Muskels wenig deutlich. Verfettung in Form feinster Tröpfchen. Fein- bis mitteltröpfige ausgedehnte Verfettung in der Wandung kleinster Arterien. Geringe großtropfige Fettmengen an normaler Lagerungsstätte (Bindegewebe der Gefäße). Parasiten reichlich in Kapillaren und Gefäßen.

Leber: Hyperämie. Trübe Schwellung. Starke Leukocytose. Kleine lympho- und leukocytäre Infiltrationsherde, besonders im peritonealen Gewebe. Mittlerer Fettgehalt der Leber (in kleinen Tröpfchen). Einige Eosinophile.

Ziemlich viele Parasiten; in den großen Venen sehr reichlich, zum Teil frei im Plasma.

Milz: Sehr blutreich. Phagocytose. Zahlreiche Fettkörnchenzellen. Körniges Pigment ziemlich reichlich. Ziemlich reichliche Parasiten extra- und intracellulär in Kapillaren und Sinus, weniger frei im Gewebe, intracellulär in den großen Gefäßen.

Lunge: Hyperämie, besonders fleckweise unter der Pleura. Atelektasen. (Fleckweise entzündliches) Oedem. Die Alveolen zum Teil mit hämorrhagischem Inhalt. In den Bronchen zum Teil blutig-schleimiger Inhalt. In Mucosa und Wand der Bronchen Eosinophile.

Sehr zahlreiche Piroplasmen intracellulär in Kapillaren und großen Gefäßen, auch im Alveolarinhalt.

Nebennieren: Rinde ohne pathologischen Befund. Mark sehr blutreich, aber frei von Hämorrhagien. Zahlreiche Parasiten in Kapillaren und großen Gefäßen, auch große Ringformen wie in Blutausstrichen.

Darm: Leichtes Oedem der Mucosa. Sehr zahlreiche Becherzellen; die Oberfläche von dickem Schleim bedeckt. Dickdarm mit weiten, starkgefüllten Gefäßen. Sehr reichliche Parasiten in Gefäßen und Kapillaren, auch extracellulär. Die Zottengefäße stellenweise so gut wie ausgefüllt von Piroplasmen. Eosinophile.

Mesenterialdrüsen: Hyperämie. Zahlreiche Parasiten in den Gefäßen. In einer Kapillare wurden Birnformen beobachtet mit geißelartigen Fortsätzen.

Pankreas: Zahlreiche Parasiten in den Gefäßen.

Gehirn: Starke Blutfüllung auch der pialen Gefäße. Fettkörnchenzellen im Gefolge kleiner Gefäße (in der Scheide). Sehr reichlich Parasiten, die die Gefäße manchmal wurstförmig ausfüllen.

Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Rückenmark: cf. Gehirn.

Knochenmark: Blutreich. Die Riesenzellen enthalten gelegentlich ganze Erythrocyten mit Parasiten. Sehr zahlreiche intra- und extracelluläre Piroplasmen.

Hund 25. Infiziert am 6. VIII., Parasiten nachgewiesen am 8. VIII., † am 10. VIII. Nicht behandelt.

Kleiner, ganz junger Foxterrierbastard weiblichen Geschlechts, mager. Die Vulva mit Blut beschmiert. Totenstarre. Gewicht 2260 g.

Das subkutane Fettgewebe von hellgrüngelber Farbe. In Pleurahöhlen, Pericard, Peritoneum geringe Mengen sanguinolenter seröser Flüssigkeit. Multiple Ekchymosen der serösen Häute. In den durchschnittenen Gefäßen ist alles Blut geronnen.

Die Milz ist groß und weich, die Pulpa etwas vorquellend, die Follikel erkennbar. Gewicht 30 g.

Leber groß, derb, dunkelrot mit deutlicher Läppchenzeichnung; auf der Schnittfläche gelblich-rot, saft- und blutreich. Die Gallenblase prall gefüllt mit teerartiger Galle. Gewicht 190 g.

Nieren von gewöhnlicher Größe, förmlich aus der Kapsel springend, außen dunkelrot. Die Schnittfläche läßt eine Zeichnung nicht erkennen und ist von gleichmäßig grauroter Farbe. Keine Blutungen. Die Ureteren vereinigen sich 2 cm über dem Blasenscheitel. Im Trigonum der Blase die Schleimhaut an einer kleinen Stelle rechts wulstig und gerötet; die Blase kontrahiert und leer. Genitalien ohne Besonderheit.

Nebennieren mit stark gerötetem Mark.

Herz kräftig, die Muskulatur getrübt und leicht gelblich.

Die Lungen von kleinen dunkelroten Fleckchen übersät. Vom Querschnitt fließt reichliche klare schaumige Flüssigkeit ab. Der Mittellappen etwas derber, mit infiltrierten luftleeren Partien. Die Unterlappen mit starkem Blutgehalt, von derberer Konsistenz; Luftgehalt fleckweise vermindert bis aufgehoben. In der Trachea rötlichweißer Schaum. Die Bifurkationsdrüsen vergrößert und gerötet, weich.

Magen enthält etwas dünne, graue Flüssigkeit, Schleimhaut im Duodenum, unteren Ileum, Coecum etwas gerötet. Die Mesenterialdrüsen stark vergrößert und gerötet. Darm ist leer bis auf geringe Mengen hellen Kotes im Ileum. Pankreas ohne Veränderung.

Gehirn- und Rückenmark: saftreich, die Gefäße stark gefüllt (die meningealen).

Knochenmark: dunkelrot und blutreich.

Anatomische Diagnose: Trübe Schwellung und Verfettung der Nieren und des Herzens. Ekchymosen und Transsudate der serösen Häute. Beginnende Bronchopneumonien; Atelektasen. Entzündliche Schwellung der Bifurkations- und Mesenterialdrüsen. Zirkumskripte Hyperämie in Blase und Rectum. Stauungsorgane. Ikterus. Milztumor: Akute Piroplasmose.

Bakteriologisch: Aus Herzblut einige Kulturen Staphylococcus albus. (Wahrscheinlich sekundär entwickelt, da in Organen nirgends nachgewiesen.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mikroskopische Untersuchung.

Niere: Die Harnkanälchen von Eiweißmassen ausgefüllt, stellenweise einige desquamierte Epithelien dabei. Kernfärbung gut. Bowmansche Kapsel frei. Geringe feintropfige Verfettung in gewundenen und auch geraden Kanälchen. Ausgesprochene trübe Schwellung. Starke Stauung. Kapillaren, besonders die Glomerulusschlingen enthalten massenhaft Piroplasmen. Kernhaltige Rote beobachtet.

Herz: Querstreifung nur stellenweise zu erkennen, Kernfärbung aber überall erhalten. Kapillaren mit Parasiten ziemlich stark angefüllt und auch vereinzelt frei im Gewebe. Einzelne kernhaltige Rote. Mittelgradige feintropfige Verfettung.

Leber: Starke Blutfüllung der Gefäße, Leberzellen schlecht färbbar. Beträchtliche Fettmengen in den peripheren Partien der Läppchen. Gallengänge mit reichlichem Inhalt. Zahlreiche intracelluläre Parasiten, kernhaltige Rote, Leukocytose besonders in den Kapillaren.

Milz: Blutreich. Die Gefäße enthalten zahlreiche Leukocyten. Geringe Mengen bräunlichen Pigments. Phagocytose. Mäßige Mengen von Piroplasmen in den Gefäßen, weniger in Kapillaren, vereinzelt im Gewebe.

Lunge: Ausgedehntes Oedem und Stauung. Zerstreute kleine Herde frischer katarrhalischer Pneumonie. Hämorrhagien. Reichliche Parasiten in Kapillaren. Die Kapillaren mit den infizierten Blutkörperchen stark in das Lumen des Alveolus vorspringend. Wenige Parasiten in Gefäßen und Gewebe. Kernhaltige Rote.

Nebennieren: ohne Veränderung. Reichlich Piroplasmen in Gefäßen und Kapillaren, einzeln im Gewebe des Marks.

Darm: Stauung. Ziemlich viele Parasiten in den kleinen Gefäßen.

Pankreas: In Sekretion. Massenhaft Piroplasmen in den großen Gefäßen.

Mesenterialdrüsen: Blutreich. Geringe Mengen bräunlichen Pigments, Phagocytose. Kapillaren stark mit Piroplasmen angefüllt.

Bronchialdrüsen: Stauung. Follikel vergrößert. Schwarzes Pigment, Phagocytose. Ziemlich viel Parasiten in den Kapillaren.

Gehirn und Rückenmark: Die Gefäße weit und stark gefüllt. Besonders im Rückenmark die Gefäße völlig von Parasiten ausgefüllt. Im Gehirn vereinzelt im Gewebe. Kernhaltige Rote.

Blase: Stark erweiterte, nach dem Blasenlumen zu vortretende Gefäße, völlig von Parasiten ausgefüllt; ebenso die Kapillaren. Das gleiche Bild im entsprechenden Abschnitt des Rectum. Hämorrhagien.

Knochenmark: Sehr blutreich. Ziemlich viele Parasiten.

Mikroskopischer Befund bei Hunden, von denen ein Sektionsbericht nicht vorliegt. Wie mir mitgeteilt wird, wurde bei sämtlichen hier folgenden Hunden Ikterus und Ekchymosen beobachtet.

Hund 1. Geimpft am 18. VI., Parasiten im Blut am 24. VI., † 29. VI. Nicht behandelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Niere: Die gewundenen, weniger die geraden Harnkanälchen sowie die Bowmansche Kapsel enthalten Eiweiß. Kernfärbung gut. Leichte Hyperämie. Parasiten in mäßiger Menge in Glomerulis und Kapillaren.

Milz: Stauung, mäßige Phagocytose. Piroplasmen vereinzelt intra- und extracellulär in Gefäßen.

Lunge: Stauung. Atelektasen. Hämorrhagien und leichtes Oedem. Bronchitis. Fleckweise beginnende Bronchopneumonie. Piroplasmen färben sich schlecht und sind nur vereinzelt intra- und extraglobulär nachzuweisen in den Kapillaren.

Hund 2. Geimpft am 7. VI., Parasiten nachgewiesen am 10. VI. Behandelt mit Arsenophenylglycin. † 23. VI.

Niere: Ausgedehnter frischer hämorrhagischer Infarkt. Im gewundenen und geraden Kanälchen Eiweißmassen. Die Epithelien der Kanälchen trüb geschwollen und — in der infarzierten Partie — zum Teil nekrotisch. Im infarktfreien Gewebe die Zellen zum Teil noch gut erhalten. Ikterus. Leukocytose. Parasiten in geringer Zahl in den Glomerulis, reichlicher und gut erhalten in den Kapillaren.

Milz: Hyperämie. Starke Phagocytose. Die Zellen enthalten Zelltrümmer und Piroplasmen. Letztere schlecht färbbar.

Leber: Geringgradiges Oedem. Fettgehalt beträchtlich. Piroplasmen schlecht färbbar, finden sich in Kapillaren und frei im Oedem.

Hund 3. Infiziert am 12. VI., Parasiten im Blut am 17. VI. † 25. VI. Nicht behandelt. (Die Organe sind schlecht konserviert.)

Niere: Kapselraum und Kanälchen voll Eiweiß. Hyperämie. Keinerlei Infiltration. Kernfärbung verschieden gut. Fibrinöse und hämorrhagische Auflagerungen auf der Glissonschen Kapsel, zahlreiche Piroplasmen enthaltend. Parasiten intracellulär und frei im Gewebe. Kapillaren vollgepfropft mit Piroplasmen, die Glomeruli im allgemeinen ziemlich voll, zum Teil prall gefüllt.

Leber: Oedem. Hyperämie, besonders ausgesprochen in den Randpartien, über denen sich geringere Kapselauflagerungen befinden (s. o.). Sehr reichliche Parasiten in der Oedemflüssigkeit, weniger in den Gefäßen.

Milz: Geringe Mengen bräunlichen Pigments. Wenig ausgesprochene Phagocytose. Reichliche Mengen von Parasiten in allen Bluträumen.

Lunge: Oedem und beginnende katarrhalische Pneumonie. Hyperämie, beträchtliche Gefäßerweiterung hauptsächlich in dem subpleuralen Gebiet; über diesen stellenweise Auflagerungen fibrinös-hämorrhagischer Massen (s. o.). Geringgradige Phagocytose. Massenhaft Piroplasmen in großen und kleinen Gefäßen, stellenweise von Phagocyten aufgenommen, doch nirgends im Lumen der Alveolen noch im Alveolarepithel.

Hund 4. Infiziert am 19. VI., Parasiten nachgewiesen am 25. VI. Behandelt mit Arsenophenylglycin. † 5. VII. (Organe schlecht konserviert.)

Niere: Hyperämie. Die Kanälchen voll Eiweiß. Stellenweise Epithelien im Lumen, Kernfärbung zum Teil schlecht, manchmal völlig auf-

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

gehoben. Glomeruli ohne Besonderheit. An einigen Stellen Infiltration mit Lymphocyten und Plasmazellen. Tubuläre Nephritis. Mäßige Menge von Piroplasmen in den Gefäßen, die Giemsa-(Sternberg)Färbung mit grünlichem Ton.

Leber: Hyperämie. Leichtes Oedem, Leberzellen schlecht färbbar. Fettgehalt ohne Besonderheit. Parasiten nicht nachweisbar. Starke Leukocytose.

Milz: Hyperämie. Reichliche Mengen gelben und braunen Pigments. Leukocytose. Vereinzelte Piroplasmen in den Gefäßen.

Lunge: Kleine subpleurale Hämorrhagien. Oedem. Stellenweise beginnende katarrhalische Pneumonie. Vereinzelte Parasiten in Gefäßen.

Hund 13. Infiziert am 19. VI., Parasiten im Blut am 23. VI. † am 25. VI. In den letzten Tagen enorme Massen von Piroplasmen im Blut. Nicht behandelt.

Niere: Blutreich. Die Kanälchen enthalten Eiweiß; stellenweise auch Spuren davon in der Bowmanschen Kapsel. Reichlich Piroplasmen in Glomerulusschlingen, Kapillaren und Gefäßen.

Leber: Leichtes Oedem. Stauung besonders in den subkapsulären, oberflächlichen Partien, über denen sich hämorrhagisch-fibrinöse Auflagerungen finden. Reichlich Parasiten in Gefäßen und Kapillaren, vereinzelt im Oedem und im Gewebe.

Milz: In den oberflächlichen Schichten Hämorrhagien und kleinzellige Infiltration. Blutlg-fibrinöse Auflagerungen auf der Kapsel. Perivaskuläre Infiltration. Mäßige Menge von Parasiten.

Lunge: Hyperämie. Oedem. Bronchopneumonien. Leukocytose besonders in den Kapillaren. In anderen Stellen hämorrhagische Bronchitis und Bronchopneumonie. In diesen letzteren Bezirken massenhaft Piroplasmen im Bronchialinhalt; ferner im Oedem. Ueberall sehr reichliche Parasiten in Kapillaren und Gefäßen, extra- und intraglobulär. Vereinzelte kernhaltige Rote.

Hund 14. Infiltriert am 19. VI., Parasiten im Blut nachgewiesen am 24. VI; behandelt mit Arsenophenylglycin, † am 29. VI.

Niere: Hochgradige Stauung. Großer frischer Infarkt. Eiweiß in Kanälchen und Glomerulis. Hyaline Zylinder. Epithelien trübe und geschwollen. Kernfärbung (Infarktgegend ausgenommen) intakt. Mark stärker befallen als Rinde. Piroplasmen schlecht färbbar; vereinzelt in den Glomerulusschlingen. Kernhaltige Rote.

Leber: Hochgradige Hyperämie. Die Leberzellbalken erscheinen zwischen den Kapillaren schmäler als gewöhnlich. Mäßiger Fettgehalt. Leukocyten in Kapillaren und Gefäßen. Piroplasmen ganz vereinzelt intracellulär beobachtet.

Milz: Blutreich. Derb-bindegewebige Trabekel. Piroplasmen schlecht färbbar, ganz vereinzelt in kleinen Gefäßen.

Lunge: Oedem. Hyperämie. Bronchopneumonie, vor allem in den oberflächlichen Schichten. Parasiten nicht nachzuweisen.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vergleichende Tabelle der pathologischen Befunde in Frankreich und Südafrika (Nuttall) und unserer Fälle (mit russischem Virus).

	Pathologie der Hundepiroplasmose nach Beobachtung der Krankheit (Nuttall, l. c. p. 236/237) in		Eigene Fälle (mit russischem Virus)
	Südafrika	Frankreich	
Aeußere Erscheinung	Starke Abmagerung, äußerste Blässe aller sichtbaren Schleimhäute und der haarlosen Hautpartien (Robertson).		Abmagerung und Blässe. Harnorgane und After mit blutigen Massen beschmiert.
Blut	Dünn und wässerig (Lounsbury, Robertson). Das Serum mit Hämoglobin gefärbt.	Herz u. große Blutgefäße enthalten weiche Klumpen, hauptsächlich aus Fibrin, die in hämoglobingefärbtem Serum flottieren.	Hell und dünn. Serum farblos, nur in einem akuten Fall rosa tingiert. Stets mit zahlreichen Parasiten.
Milz	Stark vergrößert, gestaut (Hutcheon). Leicht vergrößert, weich, blaß, blutlos, färbt wie andere Organe kaum Papier beim Darüberschmieren. Zahlreiche Parasiten darin (Robertson). In unseren Fällen geringe Veränderungen.	Oft aufs 3—4-fache vergrößert, erweicht, dunkel, wird an der Luft rot. In akuten Fällen brauchen keine Veränderungen vorhanden zu sein. Parasiten zahlreich in beiden Fällen. Wenn Milzvergrößerung vorhanden, so kann sie während des Lebens ausgesprochen sein.	Vergrößert, je nach der Stärke der Stauung derb, Follikel stets deutlich erkennbar, oft vortretend. Farbe stets dunkelrot. In einem Fall Pulpa weich und vorquellend (spärlicher Staphylokokkenbefund).
Leber	Gewöhnlich gestaut, manchmal entzündet, mahagoni- oder saffranfarbig. Galle dunkelgrün, gewöhnlich dicker als in der Norm (Hutcheon). — Leber enorm vergrößert, weich, „erfüllt mit wässeriger Flüssigkeit" (Robertson). In unseren Fällen aber makroskopisch nur leicht verändert.	Gewöhnlich gestaut, mit geringer Veränderung. Das vom Schnitt abfließende Blut reich an Parasiten. Galle gewöhnlich dick, sirupartig, klumpig und dunkelgrün, dehnt die Gallenblase aus. In einem anderen Falle war die Leber von normaler Größe, gelblicher Farbe, die Gallenblase mit sirupartiger Galle gefüllt.	Groß und etwas konsistenter als gewöhnlich, stark gestaut; in einem akuten Fall sehr saftreich. Gallenblase stets groß und prall gefüllt; Galle teerartig, nur in einem akuten Falle ganz dünn und rotgelb.
Nieren	Mehr oder weniger gestaut, manchmal ödematös, Rinde dunkelbraun (Hutcheon). — Niere blaß und zerreiblich (Robertson).	Meist stark gestaut, Kapsel leicht abziehbar, darunter zahlreiche Petechien. Auf dem Schnitt die Rinde gestaut, mit Petechien. Nierenblut sehr reich an Parasiten. In einem akuten Fall floß gelblichrote Flüssigkeit vom Schnitt ab.	Stark gestaut. Trübe Schwellung. Verfettung makroskopisch nicht sicher zu bestimmen. In 2 Fällen Thrombose und Infarkt.
Blase	Normal; Urin gewöhnlich dunkelbraun, wie „Pontac" (Hutcheon). Urin kann normal aussehen (Robertson).	In einem Falle fand sich zwetschenbrühähnlicher Urin.	Schleimhaut in zwei Fällen gerötet, in einem Falle auch gewulstet. Urin dunkelgelb bis gelbrot, Blase gewöhnlich leer.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seröse Höhlen	Peritoneal- und Pleurahöhle kann Flüssigkeit enthalten (Hutcheon). Manchmal bräunliche seröse Exsudation in der Brusthöhle. In Lounsburys chronischem Fall (Ch. V) Pericarditis und Pyothorax.		Im Herzbeutel zumeist ein seröser Erguß. Manchmal in sämtlichen Höhlen (auch leicht ikterisch gefärbt). In 2 Fällen hämorrhagisch-fibrinöse Peritonitis mit zahlreichen Piroplasmen.
Magen	Fundus meist entzündet, Pylorusteil normal, gelegentlich einige ulcusähnliche Flecken auf den Schleimhautfalten (Hutcheon).		Intakt.
Darm	Katarrhalische Entzündung des Dünndarms, stärker am Duodenum. Im Lumen zäher Schleim, oft mit Blut vermischt. Dickdarm leicht, aber nicht gleichmäßig entzündet, enthält viel zähen Schleim (Hutcheon).	In wenigen Fällen die Schleimhaut infiltriert und gestaut auf der Höhe des Duodenums.	Schleimhaut stets am Coecum etwas ödematös, auch gerötet. In einem Falle Duodenum und Coecum, in einem Falle das ganze Colon stark gerötet. Stets reichlicher zäher Schleim.
Herz	Pericard mit wechselnder Menge seröser Flüssigkeit. Ekchymosen um das Herz herum, reichlich auf dem linken Ventrikel (Hutcheon).	Pericard enthält gelbe oder blutige Flüssigkeit. Nicht selten beobachtet man zahlreiche Petechien um die Spitze oder unter dem Endocard des linken Herzens. Herz kann blaß sein (akuter Fall).	Gelegentlich einzelne Ekchymosen. Muskulatur blaß und trüb, gelblich.
Lunge	Nach Hutcheon selten affiziert. Ich fand Oedem und rosa, schaumige Flüssigkeit in Bronchen und Trachea.	Oft kleine apoplektiforme Herde. Bei jungen, schnell sterbenden Hunden gewöhnlich akutes Oedem und rötliche schaumige Sekretion in Bronchen und Trachea.	Hämorrhagien. Atelektase. Beginnende Bronchopneumonie und Oedem. In Bronchen und Trachea rötlicher Schleim.
Knochenmark	Gestaut.	Gewöhnlich stark gestaut, von fötalem Aussehen, weich, mürb, reich an intraglobulären Parasiten.	Gestaut.
Lymphdrüsen	Bei einem kleinen Hunde schienen die retroperitonealen Drüsen infiziert, die anderen unverändert.	Selten affiziert.	Mesenteriale Lymphdrüsen stets vergrößert, meist gerötet. In einem Fall die Bifurkationsdrüsen groß, weich und gerötet.
Zentralnervensystem	Leichte Stauung in einigen unserer Fälle.	Nichts Besonderes, Meningen leicht gestaut.	Gefäße stets stark gefüllt.
Ikterus	In einigen Fällen sind die Gewebe im allgemeinen gelblich (Hutcheon).	In akutem Fall intensiver Ikterus der Schleimhäute, Sklera, Haut und des Fettes.	Mit Ausnahme eines akuten Falles stets leichter Ikterus.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Fassen wir die Befunde an allen unseren Hunden zusammen, so kommen wir zu folgendem Ergebnis:

Stets fanden wir die Tiere in elendem Zustand, matt und abgemagert; Haut und Schleimhäute zeigen eine auffallend blasse, graue Farbe. Von einem spezifischen Geruch des Tieres konnten wir uns nicht überzeugen. After und Vulva resp. Penis zeigten oft schleimig-blutige Massen aufgelagert. Das Blut — schon in der Agone — war hell und dünn; in einem Fall war das Serum leicht rosa tingiert. Stets wurden Parasiten nachgewiesen, meist in großen Massen. Das subkutane Bindegewebe war zumeist saftreich und stets leicht hellgrünlich gefärbt (ein Fall war hiervon ausgenommen). Schwerer Ikterus wurde nicht beobachtet. Ergüsse wurden in einigen Fällen in allen serösen Höhlen gefunden, zumeist jedoch nur im Herzbeutel und nie hochgradig. Ekchymosen fanden sich regelmäßig nur auf der Pleura, auf dem Epicard nur gelegentlich. Hämorrhagien traten auf in den Lungen und in einem Fall in der Milz. In 3 Fällen wurden exsudative Peritonitis beobachtet, mit hämorrhagisch-fibrinösen Auflagerungen auf der Serosa.

Die Herkunft der Niereninfarkte ist nicht einwandfrei klargestellt. Wenn sie sich auch mehrfach bei Tieren fanden, die mit Arsenpräparaten (s. die Befunde Igersheimers und Itamis) behandelt waren, so sahen wir doch auch einen Infarkt bei einem Kontrollhund (Hund 15).

Hyperämie der inneren Organe haben wir in sämtlichen Fällen. Am auffallendsten (in umschriebenen Bezirken) in den oberflächlichen Partien der Organe (Leber, Milz), bei denen sich hämorrhagisch-fibrinöse Kapselauflagerungen (exsudative Peritonitis) zeigten. Weiter bei einem ganz jungen Hund, der hochgradige Erweiterung und Füllung der Gefäße in Blase und Rectum aufwies. Im letzteren Falle waren die Blutkörperchen völlig durchsetzt von Parasiten, während sich sonst gerade in den Hämorrhagien Parasiten weniger leicht färben ließen.

Als Todesursache imponierte das Oedem der Lungen, zusammen mit den zerstreuten Bronchopneumonien und der Bronchitis; denn in keinem Falle war einer der Komponenten

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

stark genug ausgesprochen, um als alleinige Todesursache betrachtet zu werden.

Die Piroplasmen fanden sich — soweit die Sektion nicht zu lange nach dem Tode vorgenommen war — in wechselnden Mengen in allen Organen. Und zwar fanden sich die meisten Piroplasmen in den Kapillaren, die sie stellenweise „völlig ausfüllten"; d. h. sämtliche im Schnitt der Kapillaren sichtbaren roten Blutkörperchen enthielten eine Anzahl Piroplasmen; stellenweise waren sie auch frei im Lumen zu sehen. Doch konnten wir nirgends den Eindruck gewinnen, daß — wie dies namentlich von der Leber behauptet wird — die parasitenstrotzenden Gefäße einen zur Nekrose führenden Druck auf die Umgebung ausübten. Bei weitem die größte Menge von Piroplasmen sahen wir in den Glomerulis der Niere. Die übrigen Organe dürften so ziemlich gleichmäßig befallen sein mit Ausnahme der Milz, in der wir — im Gegensatz zu anderen Autoren — stets auffallend wenige Parasiten fanden. Zahlenmäßig haben wir das Resultat nicht festgestellt.

In den größeren Gefäßen fanden wir stets Piroplasmen, doch lagen sie hier oft randständig, zumeist aber in einer Ecke des Querschnitts dicht gedrängt beisammen, so daß oft die Blutkörperchengrenze dazwischen nicht zu erkennen war.

Im Gewebe wurden Parasiten nur vereinzelt aufgefunden. Dagegen sahen wir sie mehrfach in der Oedemflüssigkeit der Leber. In einigen Fällen, in denen Bronchitis bestand, fanden sich auch Parasiten im Bronchialinhalt; doch es ließ sich nicht feststellen, ob sie nicht vielleicht nur zufällig dahin gelangt waren.

Während sich im Blutausstrich stets alle Formen des Piroplasma finden, große und kleine, runde, ovale und Birnformen, sahen wir im Schnitt fast ausschließlich die kleine, runde Form. Nur in einigen wenigen Präparaten konnten wir große Ringformen und Birnenformen finden; es war das in großen Gefäßen und in Lungenschnitten. Im Abstrich des sezierten Organs finden sich meist ähnliche Formen wie im Schnitt, doch manchmal — wohl dann, wenn ein größeres Gefäß berührt wurde — auch die Bilder, die das strömende Blut zeigt. Geißelbildung wurde im Schnitt ein einziges Mal

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

beobachtet; es war dies in einer Mesenterialdrüsen-Kapillare (Hund 15). Im Ausstrich war dieser Befund öfter zu erheben.

Ohne näher darauf eingehen zu wollen, möchte ich hier bemerken, daß meist am 3.—4. Tage nach der Impfung die Parasiten im Blut nachweisbar waren; ferner daß in der Agone das Blut oft geradezu von Piroplasmen überschwemmt war.

Zur Besprechung der Veränderungen der Organe sollen die behandelten Hunde von den Kontrolltieren getrennt werden. Bei den unbehandelten Hunden finden sich im allgemeinen die Erscheinungen, wie sie bei akuten Infektionskrankheiten aufzutreten pflegen: Hyperämie, trübe Schwellung, beginnende Verfettung der parenchymatösen Organe und Leukocytose. Die letztere besonders ausgesprochen in den Kapillaren der Lunge und den Kapillaren und Gefäßen der Leber. Weiter Ikterus, Ekchymosen der serösen Häute (s. o.) und vereinzelt auch kleine Hämorrhagien innerer Organe. In mehreren Fällen sahen wir Eosinophilie, besonders deutlich in Lunge, Leber und Darm.

Die Milz war stets vergrößert und mehr oder weniger derb. Auf der Schnittfläche dunkelrot, die Follikel stets deutlich erkennbar. In einem Falle, aus dem spärliche Staphylokokken gezüchtet werden konnten, war die Pulpa weich und zerfließlich. Stets war der Blutreichtum beträchtlich, scholliges Pigment und Phagocytose vorhanden, Piroplasmen nie in größerer Menge. Vereinzelt Hämorrhagien (so bei bestehender exsudativer Peritonitis).

Die Leber war groß und etwas konsistenter als gewöhnlich, sehr blutreich. In 2 Fällen fanden sich fibrinöse Auflagerungen auf der Kapsel. In einem ganz akuten Falle fiel der Saftreichtum auf. Eine ausgesprochene ikterische Färbung des Organs war nicht zu bemerken. Die Gallenblase war groß und vollgefüllt mit dicker, teerartiger Galle, von schwarzgrüner Farbe und oft leicht krümeliger Beschaffenheit. In einem akuten Falle war die Galle ganz dünn und rotgelb.

Im mikroskopischen Bild ist das Auffallendste der Blutreichtum und die starke Leukocytose. Die Leberzellen lassen sich verschieden gut färben. In einem Falle kleine Infiltrationsherde im periportalen Gewebe. In 2 Fällen (davon

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer behandelt) starke ausgußähnliche Füllung der Gallengänge.

Die Nieren sind stark gestaut, so daß sie förmlich aus ihrer Kapsel springen. Die Konsistenz ist etwas vermehrt, die Schnittfläche trübe.

Mikroskopisch findet sich trübe Schwellung der Epithelien, reichlicher Eiweißgehalt, Verfettung besonders der Epithelien der gewundenen Kanälchen. In einem Falle, in dem sich ein frischer Thrombus fand, und in 3 weiteren Fällen fand sich auch Eiweiß innerhalb der Bowmanschen Kapsel und in einem Falle kleine Infiltrationsherde in der Rinde. Ableitende Harnwege und Nebennieren ohne besondere Veränderungen.

Der Magen zeigte außer einer blassen Schleimhaut keine besonderen Merkmale. In einem Falle war er stark mit Nahrungsresten gefüllt, sonst stets leer. Die Darmschleimhaut war stets von glasigem, zähem Schleim bedeckt. Am Coecum war sie etwas ödematös, auch leicht gerötet. In einem Falle waren Duodenum und Coecum, in einem das Colon (besonders das Rectum) stark gerötet. Mikroskopisch fand sich geringgradiges Oedem und Hyperämie.

Das Herz zeigte ein blasses und trübes Aussehen der Muskulatur, die manchmal auch einen gelblichen Schimmer aufwies. Mikroskopisch fand sich trübe Schwellung und Verfettung.

Auch die Lungen boten in allen Fällen ein ziemlich gleichmäßiges Aussehen: Oedem, zerstreute broncho-pneumonische Herde, Atelektasen und Hämorrhagien; ferner Bronchitis. Mikroskopisch Leukocytose, auch Eosinophilie; Hyperämie. In einem Falle fand sich blutiger Inhalt in Alveolen. In einem Falle fibrinöse Pleuritis und geringgradige Phagocytose.

Von Lymphdrüsen wurden in 3 Fällen (einer war behandelt) die mesenterialen und bronchialen untersucht. Die ersteren waren stets vergrößert, meist gerötet. Mikroskopisch fand sich Hyperämie, Pigmentschollen und Phagocytose. In einem Falle waren die Bifurkationsdrüsen groß, rot und weich. Mikroskopisch fand sich Hyperämie, Vergrößerung der Follikel und Phagocytose.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Das Zentralnervensystem zeigte außer stark erweiterten und gefüllten Gefäßen keinen auffallenden Befund. Auch das Knochenmark ergab außer Hyperämie keine Besonderheiten.

Die Hunde, die mit Arsenpräparaten behandelt waren, wiesen im allgemeinen die gleichen Veränderungen auf, wie die nicht behandelten.

Vor allem ist eine Heilung nicht beobachtet worden. In sämtlichen Fällen waren auch innerhalb der Organe Parasiten nachweisbar. Bei einem Tier (Hund 11) in Massen, die von einem Kontrolltier kaum erreicht wurden. Bei zwei Hunden konnten nur vereinzelte Piroplasmen dargestellt werden, doch führen wir dies auf die zu spät erfolgte Konservierung zurück. Bei 2 Tieren glückte die Giemsa-Färbung nicht ganz; die Präparate nahmen einen grünlichen Farbenton an, während Weigert-Gieson-Färbungen gut ausfielen.

Während außer einem frischen Nierenthrombus bei Hund 15 größere Blutungen oder Thrombusbildungen nicht beobachtet wurden, fanden sich bei 2 Tieren (Hund 2 und 14) ausgedehnte frische Niereninfarkte, die ich — auch auf Grund der Experimente Igersheimers und Itamis (vergl. p. 667) — auf die Organbehandlung zurückführen möchte. Auch fand sich die einzige schwere Nierenveränderung bei einem behandelten Tier (Hund 4). Während bei den übrigen die Nierenaffektion als trübe Schwellung zu bezeichnen war, zu der in einigen Fällen (abgesehen von der schon physiologisch in geringem Maße vorhandenen Fettmenge) Verfettung trat, findet sich hier eine ausgesprochene tubuläre Nephritis, die vielleicht auch auf die Arsenbehandlung zurückzuführen ist. Weitere Unterschiede ließen sich zwischen behandelten und unbehandelten Tieren nicht auffinden. Insbesondere bietet der mit Arsenophenylglycin behandelte Hund 11 völlig rein das Bild der akuten Piroplasmose.

In der Tabelle III finden sich die mikroskopischen Veränderungen nochmals zusammengefaßt.

Um unsere histologischen Ergebnisse kurz zu resümieren, möchte ich sagen, daß wir im wesentlichen die bei Nuttall und Graham-Smith angegebenen Befunde bestätigen können.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III. **Histologische Befunde.**

	Unbehandelte Hunde	Behandelte Hunde
Blut	Reichliche Parasiten, die sich leicht färben.	Desgl.
Milz	Hyperämie. Follikel ziemlich groß. Wenige Parasiten. Pigment in Schollen. Phagocytose (Fettkörnchenzellen). Leukocytose. Oberflächliche Hämorrhagie und hämorrhagisch-fibrinöse Kapselauflagerungen. In einem Fall reichliche Parasiten.	Vereinzelte Parasiten in den Gefäßen. Färbung in zwei Fällen nicht geglückt. Pigment. Leukocytose. Phagocytose, in einem Fall stark. In einem Fall vereinzelte Hämorrhagie.
Leber	Hyperämie. Trübe Schwellung, Leukocytose. Kleine Infiltrationsherde im perivaskulären Gewebe. Eosinophilie. Ausgedehnte Verfettung, Oedem. Hyperämie der oberflächlichen Partien und hämorrhagisch-fibrinöse Kapselauflagerungen in zwei Fällen.	Hyperämie. Leukocytose. Oedem. In einem Fall vermehrter Fettgehalt. Starke Gallenfüllung der Gänge in einem Falle („Ausgüsse").
Niere	Hyperämie. In 1 Fall feiner Thrombus. Trübe Schwellung. Vereinzelte kleine Infiltrationsherde (15). In einigen Fällen Eiweiß in der Bowmanschen Kapsel. Verfettung (gewundene Kanälchen und Schleifen). Massenhaft Parasiten.	Hochgradige Stauung. Trübe Schwellung. Bildung hyaliner Zylinder. Infarkt (14,2). Tubuläre Nephritis (4), Leukocytose, Ikterus. Verfettung, besonders der Epithelien der gewundenen Kanälchen.
Blase	Hyperämie. In einem Fall (25) enorme Gefäßerweiterung mit massenhaften Parasiten.	—
Seröse Höhlen	Petechien.	Petechien.
Magen-Pankreas	—	—
Darm	Leichtes Oedem der Mucosa. Viel dicker Schleim. Hyperämie (Dickdarm).	Hyperämie. Zahlreiche Parasiten in den submukösen und Zottengefäßen.
Herz	Trübe Schwellung. Verfettung.	Trübe Schwellung. Verfettung.
Lunge	Hyperämie. Oedem. Atelektasen. Bronchopneumonie. Eosinophilie. Blutig-schleimiger Inhalt in Bronchien, z. T. Blut in Alveolen. Vereinzelte, fleckweise fibrinöse Auflagerungen auf der Pleura. Geringe Phagocytose.	Hyperämie. Oedem. Bronchopneumonie. Subpleurale Hämorrhagie. Atelektasen. Leukocytose.
Knochenmark	Stauung. Phagocytose.	Hyperämie.
Lymphdrüsen	Hyperämie. Phagocytose. In einem Fall Vergrößerung der Follikel. Pigmentschollen.	Hyperämie. Pigmentschollen. Phagocytose.
Nervensystem	Hyperämie.	Desgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Wir konnten nicht finden die ausgesprochenen Entzündungen in Niere und Leber, auch nicht die Nekrose der Leberzellen. Dagegen fanden wir regelmäßig die trübe Schwellung der parenchymatösen, die Hyperämie aller inneren Organe, verschieden weit ausgebildete Verfettung von Herz und Niere, während der Fettgehalt der Leber im allgemeinen dem Ernährungszustand der Tiere zu entsprechen schien. Im Gegensatz zu anderen Autoren fanden wir in der Milz stets eine sehr geringe Menge von Piroplasmen, auch in den Milzabstrichen nie so viele wie z. B. in Lunge, Leber, Gehirn oder gar der Niere. Die Darmveränderungen waren in unseren Fällen nicht so ausgesprochen wie in den anderer Autoren. Dagegen fanden wir in einem Fall eine kolossale Gefäßerweiterung und Hyperämie im Trigonum der Blase und im Rectum, die vielleicht zu den Blutverlusten auf dem Wege über Darm und Harnwege beigetragen hat. Denn wir konnten uns sonst in keinem Falle davon überzeugen, daß Blutkörperchen oder Piroplasmen in die Bowmansche Kapsel übertraten oder sich im Lumen des Darmes vorfanden. Bei diesem Hund (Hund 25) fand sich denn auch — wie im Sektionsprotokoll vermerkt — Vulva und Anus mit blutigen Massen beschmiert.

Eine ausgesprochene Nephritis, so wie sie z. B. Collaud für das Rind beschreibt, sahen wir nie. Die einzige „tubuläre Nephritis“ kam bei einem Atoxylhund vor.

Dagegen waren die mesenterialen Lymphdrüsen, und im Fall 25 die bronchialen (denn die frische Lungenaffektion ist wohl dafür noch nicht ausreichend gewesen) bei uns stets stärker affiziert; ein Befund, der den oben zitierten Angaben Schillings für das Rhodesiafieber, Kossels für Pferdepiroplasmose entspricht. Auch die Ausgüsse der Gallenkapillaren, wie sie Kossel für die „Hämoglobinurie der Rinder“ beschreibt, haben wir gesehen, besonders deutlich in einem Fall.

Die Petechien der serösen Häute waren regelmäßig vorhanden, doch konnte ich sie am Herzen, wo sie nach verschiedenen Autoren stets auftreten sollen, nicht regelmäßig nachweisen. Lungenödem war stets vorhanden, vergesellschaftet mit Atelektasen und — terminaler — Bronchopneumonie.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Fig. 1a.

Fig. 1b.

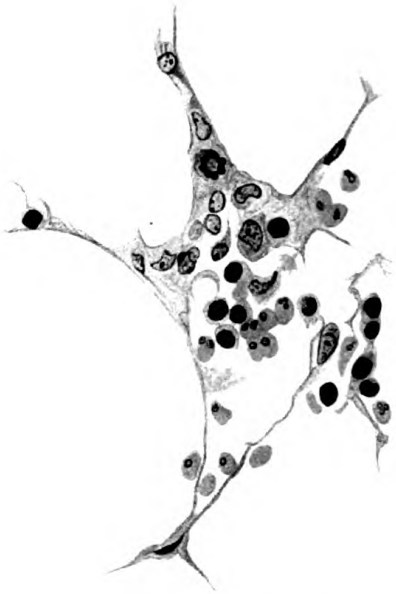


Fig. 4.

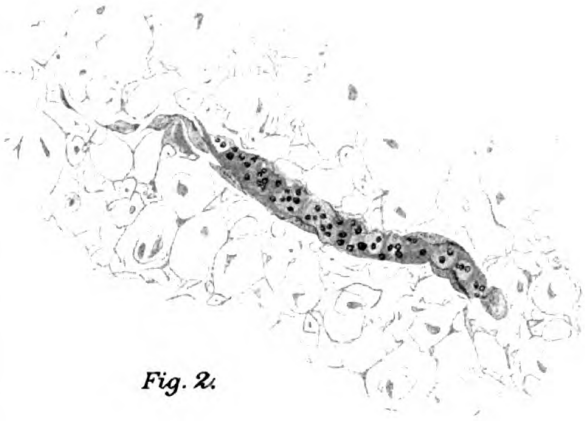


Fig. 2.

Fig. 3.

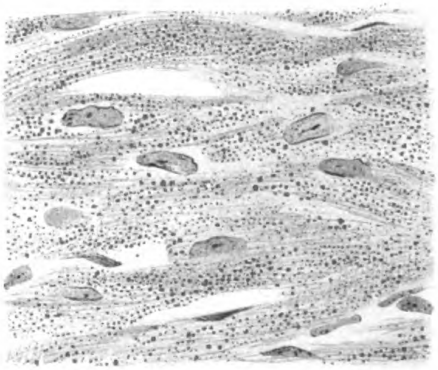


Fig. 6a.

M Ehlers gez.

Verlag von Gustav Fi

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

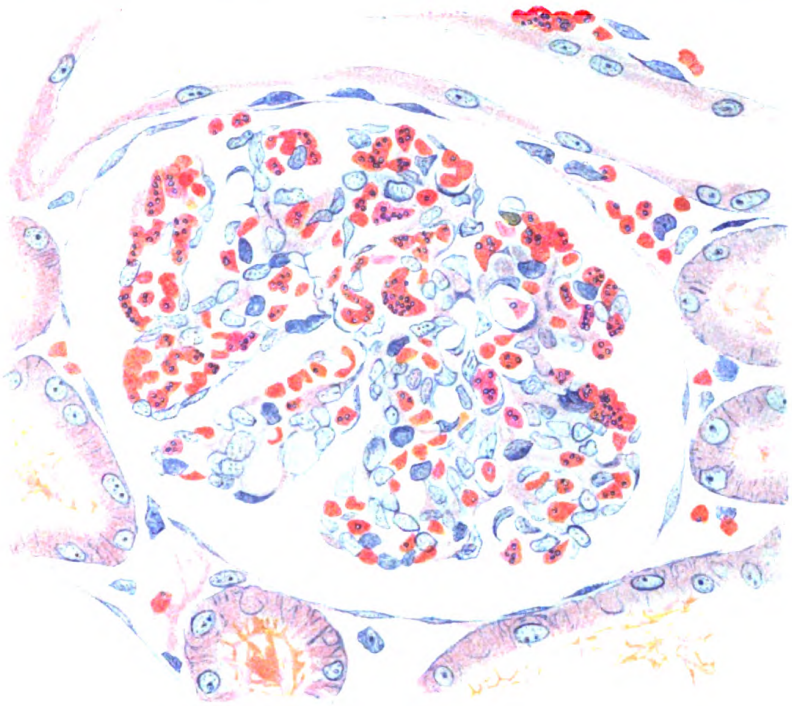


Fig. 5.

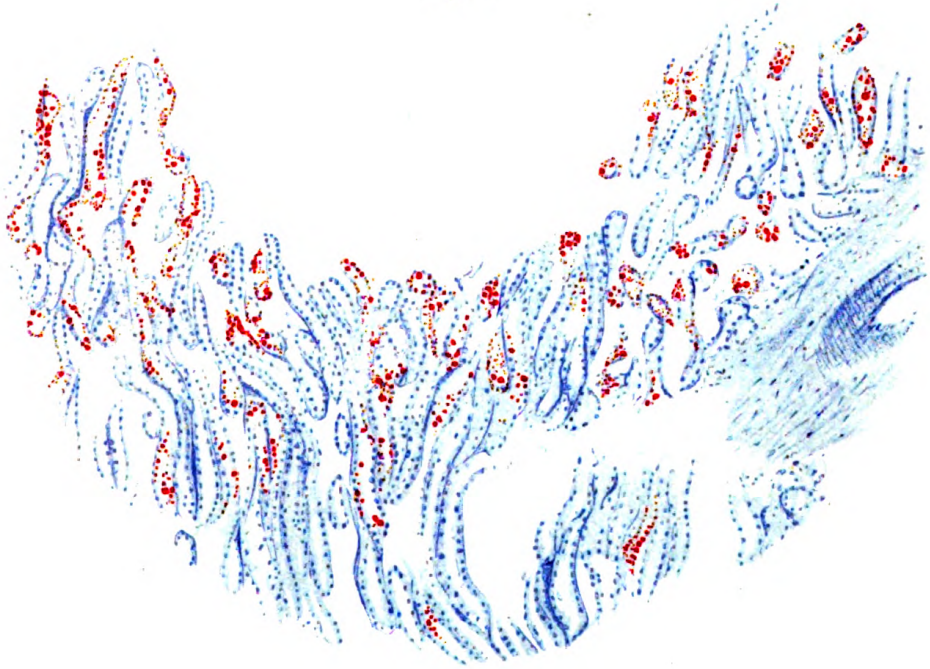


Fig. 6b.

Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena.

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Wir können also dem nicht zustimmen, daß bei Hunden, die an der akuten Infektion zugrunde gehen, Veränderungen bei der Autopsie fehlen. Auch die „gelbe Leber", die mehrfach hervorgehoben wird, haben wir nicht gesehen; Haut und Schleimhäute der Tiere waren blaß, doch die inneren Organe, besonders Leber und Milz, stets hyperämisch; der Fettgehalt der Leber, wie schon oben erwähnt, die Norm nicht übersteigend.

Die Veränderungen am Zentralnervensystem waren auffallend gering. In einem Fall fand sich eine Anzahl von Fettkörnchenzellen in den Gefäßscheiden, jedoch nirgends im Gewebe. Sonst fanden sich nur weite, stark gefüllte Gefäße mit zahlreichen Piroplasmen. An Knochen, Muskeln und Haut wurde keine Veränderung gefunden.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei Hunden, die mit Piroplasma canis (russischer Virus) infiziert und zum Teil mit Arsenpräparaten behandelt waren.

Literatur.

1) Collaud, Beiträge zur pathologischen Histologie der Niere bei Rhodesian Redwater der Rinder in Südafrika (Piroplasmosis). I.-D. Zürich 1906.
2) Gonder, Atoxylversuche bei der Piroplasmose des Hundes. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 27, 1908, p. 301—309.
3) Igersheimer und Itami, Zur Pathologie und pathologischen Anatomie der experimentellen Atoxylvergiftung. Arch. f. exp. Path. und Pharmak., Bd. 61, I, 1909.
4) Kaestner, Protozoen als Erreger von Krankheiten bei Tieren. (Piropl. canis, p. 504.) Lub.-Ostertags Ergebnisse, Bd. 11, 1, 1906.
5) Kossel, Die Hämoglobinurie der Rinder. Kolle-Wassermanns Handb. d. path. Mikroorganis., Bd. 1, p. 841 ff.
6) Nocard et Motas, Contribution à l'étude de la Piroplasmose canine. Annales Pasteur, 1902 (Lit.).
7) Nuttall and Graham-Smith, Canine piroplasmosis. Journal of Hygiene, Vol. 4 u. 5, 1904—1905, p. 219—252 resp. 250—267 (Lit.).
8) Piana uud Galli-Valerio, Moderno Zooiatro, 1895, No. 9. Zit. nach dem Autoreferat im Centralbl. f. Bakt., Bd. 18, 1895, p. 345, und Bd. 34, 1904, p. 367 ff.
9) Robertson, Malignant jaundice in the dog. Journ. of compar. Path. et Ther., Vol. 14, 1901, p. 329 ff.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

10) Schilling, Piroplasmosen. Kolle-Wassermanns Handb. d. path. Mikroorg., 1. Erg.-Bd., p. 76.
11) Zahlreiche Einzelreferate im Bulletin de l'Institut Pasteur, 1903—1908.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I.

Fig. 1a. Piroplasmen im strömenden Blut; Agone. Sternbergsche Färbung. (Hund 13.)
Fig. 1b. Piroplasmen im Nierenabstrich. Jakimoffsche Färbung. (Hund 1.)
Fig. 2. Piroplasmenerfüllte Kapillare im Rückenmark. Sternbergsche Färbung. (Hund 15.)
Fig. 3. Parasiten in Kapillaren der Lunge. Sternberg. (Hund 15.)
Fig. 4. Parasiten im Knochenmark, gefärbt nach Weigert-van Gieson. (Hund 15.)
Fig. 5. Nierenglomerulus nach Sternberg. (Hund 15).
Fig. 6a. Nierenverfettung. (Hund 25.) } Gefärbt mit Fettponceau und
Fig. 6b. Herzmuskelverfettung. (Hund 11.) } Eisenhämato-xylin.

Nachdruck verboten.

[Aus der k. k. Pädiatrischen Klinik (Vorstand: Hofrat Prof. Escherich) und dem k. k. Serotherapeutischen Institut (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf).]

Vaccineinfektion des Kaninchens durch intrakutane Injektion von Kuhpockenlymphe.

Von Dr. **J. Novotný** und Dr. **B. Schick.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. März 1910.)

Während die corneale Impfung des Kaninchens mit Vaccine- oder Variolamaterial so typisch verläuft, daß die corneale Impfung als diagnostisches Hilfsmittel in Betracht kommt, gibt die kutane Impfung wechselnde Resultate. Calmette und Guerin haben angegeben, daß man bei intravenöser Injektion des Kaninchens mit Vaccinelymphe dann Hauterscheinungen bekommt, wenn man innerhalb 24 Stunden nach der Injektion das Tier am Rücken rasiert. Diese Angaben haben Mühlens und Hartmann, sowie De Waele und Sugg nicht bestätigen können. Mühlens und Hartmann versuchten bei Kaninchen (3 kg schwer) durch kutane Einreibung des Virus Vaccinepusteln zu erzeugen. Diese Versuche fielen negativ aus. Auch De Waele und Sugg sprechen sich über

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kutane Vaccination des Kaninchens ungünstig aus: „Versuche, Kaninchen mit Kuhpockenlymphe intrakutan zu impfen, haben nur sehr wenig interessante Resultate geliefert. In der Hauptsache sind sie negativ, manchmal konnten wir am 3. Tage die Bildung von Papeln beobachten, die dann schrumpften und am 6. Tage abgeheilt waren. Wir fanden, daß bei den Tieren große individuelle Verschiedenheiten vorkommen."

Dagegen hat Voigt auf dem Naturforschertage in Meran 1905 darauf hingewiesen, daß das Kaninchen sich sehr gut zur Vaccinegewinnung eignet. Man muß die Lymphe auf vorher rasierter Haut in diese einreiben. Voigt hat sogar die Kaninchenlymphe (Lapine) zum Ersatze der Kuhpockenlymphe empfohlen. Arndt hat positive Erfolge bei Einreibung der Lymphe auf rasierter Haut erzielt. Bonhoff hat die Vaccinelymphe beim Kaninchen erst bei Vorbereitung der Haut durch Reiben der rasierten Rückenfläche mit Sandpapier (Reinigung der Haut mit Seife und Wasser nach Pfeiffer, Voigt) wirksam gefunden.

Die subkutane und intravenöse Injektion von Kuhpockenlymphe führt zu Immunität, ohne zu klinisch wahrnehmbaren Erscheinungen Veranlassung zu geben.

Die schwankenden Resultate der Autoren ließen uns daran denken, daß die Methodik Schuld daran trage; die individuelle Disposition (De Waele und Sugg) konnte trotzdem noch eine Rolle spielen. Schon Voigt betont, daß weiße Kaninchen sich besser zu Vaccineversuchen eignen als andere. Wir können diese Beobachtung bestätigen.

War unsere Ueberlegung bezüglich der Methodik richtig, so mußte man beim Kaninchen (Albino) gesetzmäßig Reaktionen auf Vaccineinfektion erzielen, wenn es gelingt, die Ungleichmäßigkeit der kutanen Impfmethodik auszugleichen. Dies gelingt, wenn wir die kutane Impfung durch die intrakutane Injektion der Vaccinelymphe ersetzen.

Die intrakutane Injektion verdankt ihr Entstehen dem Bemühen um Verbesserung der Tuberkulosediagnose. Die v. Pirquetsche Probe, bei der das unverdünnte Tuberkulin durch einfaches Kratzen in ähnlicher Weise in die Haut eingebracht wird, wie bei der Vaccineimpfung die Vaccinelymphe, gibt noch bei einer Anzahl namentlich von latent tuberkulösen Individuen negative Resultate. Empfindlicher als die Pirquetsche Probe ist die Prüfung durch Stichreaktion (Reuschel, Hamburger),

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

bei welcher das Tuberkulin in entsprechender Verdünnung subkutan injiziert wird.

Mendel, Mantoux und Moussu ersetzen die subkutane Injektion durch die intrakutane. Mantoux und Moussu injizieren beim Menschen $^1/_{20}$ ccm einer 5000-fach verdünnten Alttuberkulinlösung möglichst oberflächlich in die Haut selbst. Man braucht dazu eine möglichst feine, kurz abgeschliffene Nadel. Ist die Injektion richtig ausgeführt, so sieht man unmittelbar danach die Haut durch die eingedrungene Flüssigkeit kuglig emporgehoben und im Zentrum anämisiert. Es wird die Cutis durch die Flüssigkeit infiltriert. Die Schwellung schwindet in kurzer Zeit, die Injektionsstelle bleibt bei negativem Ausfall der Reaktion ohne Veränderung, bei positivem Ausfall entstehen an der Injektionsstelle ähnliche Veränderungen wie bei einer positiv verlaufenden Pirquetschen Kutanimpfung. Der Vorteil der Methodik besteht darin, daß gut meßbare Mengen von Tuberkulin injiziert werden können und daß dabei dieselben Gewebe zur Reaktion veranlaßt werden wie bei der Pirquetschen Reaktion. Die Feinheit der intrakutanen Tuberkulinreaktion läßt sich daran erkennen, daß bei derselben Menge der anzuwendenden Flüssigkeit (1 Tropfen) zur Pirquetschen Kutanimpfung konzentriertes Alttuberkulin, zur Mantouxschen Reaktion dagegen 5000-fach verdünntes Alttuberkulin verwendet wird. Das beweist, wie gering die Menge des bei der Pirquetschen Probe zur Resorption gelangenden Tuberkulins ist.

Nach diesen Ausführungen ist es verständlich, daß die intrakutane Injektion von Vaccinelymphe gewisse Vorteile vor der kutanen Impfung haben kann. Die Menge des Infektionserregers kann bis zu einer gewissen Grenze variiert werden.

Die ersten Versuche an Kaninchen wurden mit einer (5-fach) verdünnten Lymphe ausgeführt, wobei 0,1 ccm der Flüssigkeit zur Injektion gelangte.

Kan. No. 395 wird am 19. VII. 09 an 6 Stellen des rasierten Rückens mit 0,1 einer Verdünnung: 5 Tropfen Lymphe auf 20 Tropfen physiol. Kochsalzlösung, intrakutan injiziert.

Befund:

Nach 24^h: Sämtliche Impfstellen zeigen 20 mm durchmessende Rötung mit zentralem, stärker erhabenem Infiltrate von 10 mm.

Nach 48^h: Die Infiltrate sämtlicher Vaccinationsstellen an Größe gleich, halbkuglig vorspringend. Zentrum leicht gelblich, linsengroß, Hof geschwunden.

Nach 3$\times$24^h: Das ganze Infiltrat derb, 14 mm durchmessend, das gelbliche Zentrum deutlicher.

Nach 4$\times$24^h: Infiltrate an Derbheit abnehmend, einsinkend, nur die 2. und 3. Impfstelle noch stark erhaben.

Nach 5$\times$24^h: Auch an der 2. und 4. Impfstelle das Infiltrat geringer, die übrigen Impfstellen eintrocknend.

Nach 6$\times$24^h: Alle Impfstellen eintrocknend.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am 29. VII. wurde der Versuch an einem Kaninchen (No. I), am 9. X. an zwei weiteren Kaninchen (II und III) wiederholt. Diese Tiere erhielten je 6 Impfstellen.

Nach 24ʰ:	Kan. I	An den Impfstellen 7—8 mm durchmessende Infiltrate, Zentrum etwas gelblich.
	Kan. II	Infiltrate 12—16 mm Durchmesser, Zentrum etwas gelblich.
	Kan. III	Infiltrate 16—24 mm Durchmesser, Zentrum etwas gelblich, der zentrale Anteil des Infiltrates 6—8—12 mm intensiver rot.
Nach 48ʰ:	Kan. I	Zentrale gelbliche Verfärbung deutlicher, 4 mm durchmessend, die Infiltrate 10 mm im Durchmesser.
	Kan. II	Zentrum 3—5 mm, gelblich, zentrales Infiltrat 9 bis 14 mm, dann folgt ein roter Hof. Gesamtdurchmesser der Reaktion 21—30 mm.
	Kan. III	Zentrum 3—8 mm, gelblich, zentrales Infiltrat 10 bis 19 mm, daran anschließend Rötung und geringeres Infiltrat, so daß die ganze Reaktion 26 bis 34 mm Durchmesser besitzt.
Nach 3×24ʰ:	Kan. I	Zentrale Infiltrate 10—14 mm, daneben geringe Infiltratbildung. Gesamtdurchmesser der Reaktion 20 mm.
	Kan. II	Zentrum leicht eingesunken. Infiltrat unverändert.
	Kan. III	Unverändert.
Nach 4×24ʰ:	Kan. I	Reaktionen in Rückbildung, zentrale Borkenbildung. Infiltrat abblassend.
	Kan. II	Zentrale Einpackungen deutlicher. Infiltrate an Höhe geringer.
	Kan. III	Zentrum eingesunken, die Infiltrate blässer.

Von da ab allmähliche Rückbildung aller Reaktionen:

Nach 5×24ʰ:	Kan. I	Borkenbildung an der Impfstelle.
	Kan. II	Eintrocknung der zentralen Partien, Schuppenbildung.
	Kan. III	Starke Einsenkung der Zentra.
Nach 6×24ʰ:	Kan. I	Borke in Abstoßung. } Infiltrate undeutlich
	Kan. II	Unverändert. } Infiltrate undeutlich
	Kan. III	Starke Schuppenbildung im Bereiche der Reaktion. } Infiltrate undeutlich
Nach 7×24ʰ:	Kan. I	} Reaktion in Heilung.
	Kan. II	} Reaktion in Heilung.
	Kan. III	} Reaktion in Heilung.
Nach 8×24ʰ:	Kan. I—III	Krustenbildung entsprechend den Impfstellen.

Kan. I ging 9×24ʰ nach der Vaccination ein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den bisherigen Versuchsreihen können wir entnehmen, daß die Entwicklung der vaccinalen Reaktion bereits nach 24 Stunden deutlich im Gange ist. Der Höhepunkt wird nach 48—72 Stunden in der Weise erreicht, daß sich an der Injektionsstelle ein zentral intensiver rotes, peripher blässeres Infiltrat bildet. In seiner Mitte zeigt sich gelbliche Verfärbung. Die Rückbildung erfolgt derart, daß das Zentrum unter Borken- und Krustenbildung eintrocknet; das Infiltrat wird allmählich blässer und weicher. Bis zur vollständigen Verheilung der Impfstellen vergehen gewöhnlich 10—14 Tage.

Die erste Frage, die zu beantworten war, lautete: Haben wir bei dieser Reaktion überhaupt eine Vaccinereaktion vor uns? Diese Frage konnte durch folgende Versuche entschieden werden.

Kan. No. 105 erhält in der linken Hälfte der rasierten Rückenhaut an 4 Stellen 0,1 ccm Glyzerinverdünnung (1:5) intrakutan, an der symmetrischen Stelle (rechts) an 4 Stellen 0,1 ccm virulente Lymphe (1:5).

	Injektionsstellen: links	rechts
Nach 24^h:	etwas Hyperämie, kein Infiltrat	9 mm durchmessendes Infiltrat, zentral etwas gelblich
Nach 48^h:	Rötung fast verschwunden	Infiltrate gleichgroß, das gelbliche Zentrum größer
Nach 3×24^h:	reaktionslos	Infiltrate 12 mm durchmessend, Zentrum 8 mm, gelblich
Nach 4×24^h:	reaktionslos	Beginn der Rückbildung

Am 8. Tage nach der Vaccination Tod des Tieres.

Durch diesen Versuch ist der Einwand ausgeschaltet, daß das in der Lymphe befindliche Glyzerin die Reaktion hervorruft.

Kan. 438 erhält in der linken Hälfte des rasierten Rückens an 4 Stellen 0,1 ccm virulente Lymphe 1:5 intrakutan injiziert, rechts Lymphe derselben Provenienz durch 30′ bei 56° erwärmt.

Diese unvollständige Zerstörung der Virulenz genügte, um den Reaktionsverlauf wesentlich zu verändern.

Nach 24 u. 48^h zeigen die Impfstellen mit avirulenter Lymphe nur leichte Rötung.
Nach 3×24^h ist auch die Rötung verschwunden.

Die Injektionsstellen, die mit virulenter Lymphe beschickt worden waren, zeigen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach 24ʰ 11 mm durchmessende, zentral etwas gelbliche Infiltrate.
„ 48ʰ Gelbliches Zentrum deutlicher (4 mm), Infiltrat 10—12 mm.
„ 72ʰ Infiltrate unverändert.
„ 5×24ʰ Beginn der Rückbildung.
Am 8. Tage ging auch dieses Tier ein.

Dieser Versuch beweist, daß durch längere Erhitzung der Lymphe bei 56° jener Bestandteil vernichtet wird, welcher die Reaktion auslöst, d. i. der Vaccineerreger.

Die intrakutane Injektion von virulenter Vaccinelymphe hat also bei allen 6 Tieren stets positive Erfolge ergeben. Schon diese Tatsache spricht dafür, daß die intrakutane Methode wesentliche Vorteile vor der kutanen besitzt. Davon konnten wir uns leicht überzeugen, indem wir an einem Kaninchen (No. 462) beide Arten der Impfung nebeneinander ausführten.

Das Tier erhielt links 0,1 ccm virulente Lymphe (1:5) intrakutan an 4 Stellen injiziert, rechts wird dieselbe Lymphe kutan mit Pirquetschem Impfbohrer eingeimpft.

Während die Stellen der intrakutanen Injektion die schon wiederholt beschriebene Entwicklung der Vaccinereaktion durchmachten, zeigte sich an den kutanen Impfstellen nach 24 Stunden nur ganz leichte Rötung, die nach 48 Stunden wieder verschwunden war.

Wir verwendeten nur in zwei Versuchen stärkere Konzentrationen der injizierten Lymphe. Bei Kan. No. 149 injizierten wir an 3 Stellen 0,1 ccm einer Verdünnung 1:1. Der Verlauf unterschied sich nicht wesentlich von dem Verlaufe der Impfreaktion bei Verdünnung der Lymphe 1:5. Die Reaktionen waren eher etwas kleiner. Noch kleiner fielen die Reaktionen beim Kan. 332 aus, bei dem wir zur intrakutanen Injektion unverdünnte Lymphe verwendeten. Beide Tiere starben, das erste am 9. Tage, das zweite am 18. Tage nach der Vaccination. Da wir nur über wenige Versuche verfügen, wollen wir noch nicht die Frage entscheiden, welche Konzentration bei der intrakutanen Vaccination die besten Resultate liefert; denn es könnte bei der ungleichen Verteilung des Erregers in der konzentrierten Lymphe durch Spontansedimentierung der Gehalt der injizierten Lymphe an wirksamer Substanz beeinträchtigt worden sein. Es sind daher weitere Versuche notwendig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Anwendung der intrakutanen Injektion von Kuhpockenlymphe beim Menschen ($^1/_{20}$ ccm einer Verdünnung 1:1) hat vor der üblichen Methodik keinen Vorteil. Diesbezügliche Beobachtungen an mehreren Kindern zeigten analogen Verlauf der Impfreaktion wie bei der gewöhnlichen Impfung. Ob sich die intrakutane Methodik zur Diagnose einer durchgemachten Vaccineerkrankung oder Variola, im Sinne von Pirquet und Knöpfelmacher eignet, haben wir nicht geprüft. Wir glauben aber, daß solche Versuche Aussicht auf Erfolg hätten.

Zusammenfassung.

Das Ergebnis der bisherigen Versuche erlaubt uns, zu sagen, daß die Vaccineinfektion des weißen Kaninchens durch intrakutane Injektion von virulenter Vaccinelymphe stets zu positivem Resultate führt. Ueber den Verlauf der Revaccination bei intrakutaner Methodik werden wir später berichten, da unsere Versuche noch nicht abgeschlossen sind.

Literatur.

1) Arndt, Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 47, p. 237.
2) Bonhoff, Ueber Lapine. Ref. Münch. med. Wochenschr., 1907, p. 291.
3) Knöpfelmacher, Subkutane Vaccineinfektionen. Verhandl. der 79. Vers. Deutsch. Naturf. u. Aerzte, Dresden 1907, päd. Sektion.
4) Mühlens und Hartmann, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 41, p. 203.
5) v. Pirquet, Klinische Studien über Vaccination und vaccinale Allergie. Deuticke, Leipzig und Wien, 1907.
6) Voigt, L., Ueber die Verwendung der Kaninchen zur Gewinnung des Kuhpockenimpfstoffes. Verhandl. d. 77. Vers. Deutsch. Naturf. u. Aerzte, Meran 1905, päd. Sektion.
7) De Waele und Sugg, Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 39, p. 46.

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Krebsforschung in Heidelberg; Direktor Exzellenz Czerny.]

Ueber passive Uebertragung der Immunität gegen Hasensarkom.

Von Prof. Dr. v. **Dungern.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. April 1910.)

Wie schon in dieser Zeitschrift[1]) mitgeteilt wurde, entwickelt sich die Immunität gegen Hasensarkom außerordentlich leicht. Die Tiere, bei denen einmal das Tumorgewebe eingeführt worden ist, sind gegen eine zweite Impfung immun. Als Ursache dieser Immunität habe ich eine Ueberempfindlichkeit angenommen, die vor allem in starker zellulärer Reaktion ihren Ausdruck findet. Inwieweit bei diesen Prozessen im Blutplasma zirkulierende Antikörper beteiligt sind, konnte damals nicht untersucht werden. Ich habe jetzt, nachdem ich wieder ein Hasensarkom erhalten hatte, auch nach dieser Richtung hin einige Versuche angestellt.

Der Tumor, der mir von Herrn Privatdozent Dr. Küster in Freiburg zur Verfügung gestellt wurde, war ziemlich groß, hart, weiß, speckig. Die mikroskopische Untersuchung zeigte ein ähnliches Verhalten wie bei den früher untersuchten; doch war verhältnismäßig viel Bindegewebe vorhanden, das stellenweise dicht von großen, oft degenerierten Makrophagen durchsetzt war, während junge Sarkomzellen mit chromatinarmen Kernen nur spärlich angetroffen wurden.

Der Stamm konnte leider nur bis zur 7. Generation fortgezüchtet werden, da infolge einer Stallinfektion alle Tiere mit gut wachsendem Tumor starben. Die Fortzüchtung ist keine leichte. Man muß immer eine Anzahl Kaninchen impfen und die am besten wachsenden Tumoren zur weiteren Fortpflanzung wählen. Es konnten aus diesem Grunde nur drei Versuchsreihen über passive Uebertragung der Immunität mit im ganzen 16 Tieren vorgenommen werden. In allen Fällen kamen Tumoren der

1) Bd. 2, Heft 4, 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

20. XII.	22. XII.	23. XII.	26. XII.	1. I.	6. I.
			Immunisierte Kaninchen.		
Kan. 1			erbsengroße Verdickung	kleines Knötchen	
Kan. 2			Knoten	verschieblicher harter Knoten	kleines Knötchen
Kan. 3			breite Verdickung	weiches Knötchen	weiches Knötchen
	Kan. 7		breite Anschwellung	kleine Verdickung	ganz kleine Verdickung
	Kan. 8		ganz geringe Verdickung	ganz geringe weiche Verdickung	kleiner weicher Strang
	Kan. 9		kleines Knötchen	kleiner Strang	
		Kan. 10			ganz geringe Verdickung
			Normale Kaninchen.		
Kan. 4			linsengroße Verdickung	erbsengroße Verdickung	ganz kleine Verdickung
Kan. 5			geringe Verdickung	flache linsengroß. Verdickung	kleine Verdickung
Kan. 6			ganz geringe Verdickung	ganz kleines Knötchen	flache Verdickung
	Kan. 11		kleines Knötchen	kleiner Knoten	erbsengroßer harter Knoten
	Kan. 12		kleiner Strang	kleiner Tumor	kleiner Tumor
	Kan. 13		Strang	flacher Tumor	Tumor
		Kan. 14			Tumor
		Kan. 15			2 kleine Tumoren
		Kan. 16			Tumor

2. Generation und Sera von Kaninchen der 1. Generation zur Verwendung. Das Serum wurde 3 Wochen nach der Impfung gewonnen, es stammte von Tieren, bei denen die Impfung zu einem verhältnismäßig gut wachsenden Tumor führte, der nachträglich wieder zurückgegangen war. Es wurden 12 bis 20 ccm in die Ohrvene injiziert. Mit solchem Serum wurden 7 Tiere vorbehandelt. Bei 6 Tieren erfolgte die intravenöse Seruminjektion gleichzeitig mit der Tumorimpfung, bei einem (Kaninchen 10) ging sie 24 Stunden voraus. Zur Kontrolle dienten bei jedem Versuch 3 Tiere, bei einem von diesen (Kaninchen 6) wurde gleichzeitig 12 ccm normales Kaninchen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

serum intravenös eingeführt. Die verimpften Tumoren waren 7—10 Tage alt. In den ersten Tagen nach der Impfung war ein Unterschied zwischen der Reaktion der mit Serum vorbehandelten und derjenigen der normalen Kaninchen makroskopisch nicht erkennbar. Es trat immer nur eine lokale Anschwellung, nie aber ein Oedem des ganzen Ohres auf. Der weitere Verlauf spricht jedoch dafür, daß die Immunität passiv übertragen worden ist: während bei 9 nicht spezifisch vorbehandelten Tieren 6 größere oder kleinere Tumoren entstanden sind, kam es bei 7 mit Immunserum vorbehandelten Tieren in keinem einzigen Falle zum Wachsen des Sarkomgewebes. Es müssen also Antikörper im Blutserum der geschwulstimmunen Tiere vorhanden sein, welche die Immunität vermitteln. Nach den Ergebnissen der Untersuchung über die aktive Immunisierung dürfte es sich wohl um Ueberempfindlichkeitsantikörper handeln. Den näheren Mechanismus aufzuklären, muß weiteren Beobachtungen vorbehalten bleiben.

Zusammenfassung.

Die Immunität der Kaninchen gegen Hasensarkom ist 3 Wochen nach der Impfung durch das Serum übertragbar.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Exzellenz Czerny).]

Sind Methylenblau und Hämatoxylin Antigene?

Von Dr. **M. Takemura.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. April 1910.)

Es ist bisher nicht gelungen, mit Substanzen von bekannter chemischer Konstitution Antikörper auszulösen. Es war daher um so überraschender, daß de Angelis[1]) die Angabe machte, man könne mit Farbstoffen wie z. B. Methylenblau und Hämatoxylin sehr wirksame Präzipitine erzeugen. Auf Veranlassung von Prof. v. Dungern habe ich seine Versuche nachgeprüft.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. 1, 1909, Heft 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich habe einige Kaninchen mit Methylenblau und Hämatoxylin 6 Wochen lang behandelt, indem ich 2mal wöchentlich je 0,04 g Substanz in 1-proz. Lösung intravenös einspritzte. Das Resultat war genau ebenso wie in den Versuchen von Benedetti[1]), ein vollständig negatives.

Wenn man Methylenblaulösung mit Kaninchenserum mischt und stehen läßt, so tritt bei genügender Serummenge eine Entfärbung ein, die mit Präzipitation verbunden ist. Die einzelnen Sera wirken nicht ganz gleichmäßig, eine Verstärkung durch die Immunisierung ist aber keineswegs zu konstatieren. Auch Ueberempfindlichkeitsreaktion wurde nie beobachtet, die Tiere vertrugen die Injektion immer gleichmäßig gut. Die folgenden Protokolle zeigen die Einzelheiten, die beim Vermischen der Sera mit den Farbstofflösungen zu beobachten sind.

Versuch I. Methylenblaulösung 1:1000 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. In jedes Reagenzglas kommt je 1 ccm Farblösung und abgestuft 1,0; 0,5; 0,25; 0,1 ccm Kaninchenserum.

Entfärbungsgrad.

	1	2	3	4
Immunserum I	ganz	stark	mäßig	fast unverändert
Normalserum I	„	mäßig	wenig	„ „

Die Entfärbung trat beim Immunserum nach 12 Stunden ein, beim Normalserum erst nach etwa 24 Stunden.

Die Niederschlagsmenge war in beiden Proben gering und gleich stark.

Mit Hämatoxylinlösung wurde die Probe in gleicher Weise durchgeführt, es war keine Farbenveränderung und nur ganz geringe Niederschlagsbildung nachzuweisen.

Versuch II. Methylenblaulösung 1:1000. Gleiche Versuchsanordnung.

Entfärbungsgrad nach 2 Tagen.

	1	2	3	4
Immunserum II	ganz	ganz	mäßig stark	fast unverändert
Normalserum II	fast ganz	mäßig stark	wenig	„ „

Die Niederschläge lassen sich in absteigender Menge nachweisen. Beim normalen Serum ist die Niederschlagsbildung stärker.

Hämatoxylinlösung 1:1000, gleiche Versuchsanordnung.

Resultat nach 2 Tagen:

Alle Gläser mit Immun- und Normalseren sind fast gleich stark dunkelrötlich gefärbt, Niederschläge sind nicht deutlich bemerkbar.

1) Rivista Lg. e san. Tubbl., Vol. 20, p. 81—83.

Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

Versuch III. Methylenblaulösung 1 : 2000.

In jedes Reagensglas je 1 ccm Farblösung, dazu 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 ccm Serum.

Entfärbungsgrad nach 4 Tagen.

	1	2	3	4	5
Immunserum III	ganz	ganz	mäßig	wenig	wenig
Normalserum III	„	stark	„	„	„
„ IV	mäßig stark	wenig	wenig	„	„
„ V	ganz	ganz	stark	mäßig	„
„ VI	„	„	„	„	„

Die Menge der entstandenen Niederschläge nimmt in fast gleichem Verhältnis zum Entfärbungsgrad ab.

Die Entfärbung trat bei den verschiedenen Seren verschieden stark ein.

Bei entsprechenden Hämatoxylinversuchen trat keine Entfärbung ein. Die Menge der Niederschläge war in dem Immunserum und den Normalseren fast gleich groß.

Zusammenfassung.

Nach der Vorbehandlung von Kaninchen mit Methylenblau oder Hämatoxylin treten keine Antikörper auf.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie (Vorstand: Prof. Dr. Römer) und aus der Universitäts-Augenklinik (Direktor: Prof. Dr. Bach) zu Marburg.]

Zur biologischen Sonderstellung der Linse.

Von Dr. **Franz F. Krusius,**
Privatdozent und Assistent der Kgl. Univ.-Augenklinik zu Marburg.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. April 1910.)

Uhlenhuth hat in seinen grundlegenden Untersuchungen gezeigt, daß den Eiweißstoffen der Linse des Auges eine anscheinend im Organismus einzige Sonderstellung zukommt, insofern als sich sowohl mit der Präzipitinmethode als auch durch den Ueberempfindlichkeitsversuch für das Linseneiweiß durch fast die ganze Wirbeltierreihe hindurch eine deutliche Organspezifität nachweisen läßt, ein Nachweis, der für andere native Eiweißstoffe des Organismus bislang nicht so eindeutig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erbracht werden konnte. Seitdem dürfte die durch Uhlenhuth noch offen gelassene Erklärung dieser Sonderstellung die Linse eines der den biologisch arbeitenden Ophthalmologen besonders interessierenden Arbeitsgebiete geworden sein. Meine diesbezüglichen, seit langen Monaten laufenden Untersuchungen waren schon zu Anfang des Jahres so weit zum Abschluß gekommen, daß ich ein dem folgenden entsprechendes Résumé der Versuchsergebnisse in einer Diskussion der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg in der Sitzung vom 12. Jan. 1910 geben konnte.

Eine eingehende Besprechung meiner Versuchsergebnisse und Protokolle mit ausführlicher Würdigung der schon vorliegenden Literatur ist der Sitzung der Ophthalmologischen Gesellschaft zu Heidelberg im August d. J. vorbehalten, doch bei der Länge dieses Termines scheint mir eine kurze zusammenfassende Mitteilung schon jetzt angezeigt:

Die Organspezifität des Linseneiweißes ist nur eine relative. Wie schon Uhlenhuth erwähnt, und wie ich im quantitativ abgestuften Ueberempfindlichkeitsversuch feststellen konnte, reagiert das mit Säugetierlinse sensibilisierte Meerschweinchen prompt auf Säugetierlinse, schon merklich schwächer auf Schellfischlinse und kaum nachweisbar auf das Linseneiweiß des so hoch differenzierten Cephalopodenauges. Bei gleichem Eiweißgehalt der verschiedenen Linsenlösungen ist also die beim durch Säugetierlinse sensibilisierten Meerschweinchen als toxisch reagierende Komponente schon viel geringer in Schellfischlinsenlösungen und kaum mehr nachweisbar in Cephalopodenlinsenlösungen.

Mit der verfeinerten Methodik des sehr genauen quantitativ arbeitenden Ueberempfindlichkeitsversuches läßt sich aber nachweisen, daß neben der Organspezifizität dem Linseneiweiß eine Artspezifizität innewohnt, insofern als in geeigneter Weise mit Linse vorbehandelte Tiere eine abgeschwächte Reaktion auf Serum des linsenliefernden Tieres zeigen. Diese ist quantitativ mehr an die Linsenkapsel und die dieser anliegenden Kapselepithelien und jüngsten Linsenfasern gebunden, im Gegensatz zum sklerosierten Kerne. Im gleichen Maße also, in dem sich das Kapselepithel auswächst und spezifiziert zur Linsenfaser, verschiebt sich biologisch die Artreaktion des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA
Generated on 2019-01-12 22:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Linseneiweißes zu einer nicht mehr artspezifischen Organspezifizität.

Die Augenlinse ist entwicklungsgeschichtlich ein reiner Abkömmling des Ektoderms. Diese Umwandlungen der Rindenpartien der Linse zum sklerosierten Kerne sind ein Vorgang, der auch bei anderen ektodermalen Gebilden Analoga findet: Es wird eine am Säftestrom des Körpers noch relativ teilhabende ektodermale Zelle transformiert, physikalisch und biologisch in einen Zustand der relativen Inaktivität übergeführt und aus dem direkten Stoffwechsel und Saftstrom ausgeschaltet. Durchaus zu vergleichen mit den Verhältnissen, wie wir sie bei den Horngebilden des Ektoderms finden. Ich möchte diese Erscheinung bezeichnen als eine natürliche Denaturierung nativen Eiweißes, vielleicht vergleichbar derjenigen, wie wir sie seit den Versuchen von Obermeier und Pick durch Jodierung künstlich erzielen können. Es findet ein Verlust der biologischen Artspezifizität statt zugunsten einer neu auftretenden Spezifizität des denaturierten Eiweißes, die sich eben bei der natürlichen Denaturierung der Linsenfasern als Organspezifizität darstellt.

Nach einigen Mühen gelang es mir, aus dem Horn von Pferdehufen, Kuhhörnern und Menschenhaaren eine geeignete Eiweißlösung zu gewinnen. Es gelang für dieses Horn im Ueberempfindlichkeitsversuch eine Organspezifizität festzustellen neben einer Artspezifizität, so daß wir hierin weitgehende Parallelerscheinungen zum Verhalten des Linseneiweißes finden. Es scheint, daß im Gegensatze zu den sonstigen Vorzügen der Präzipitinmethode gerade für diese Fragen der natürlichen Denaturierung und Organspezifizität der Ueberempfindlichkeitsversuch bedeutende Vorzüge besitzt, worauf auch die jüngsten Ueberempfindlichkeitsstudien Uhlenhuths mit Mumienmaterial, gekochtem und denaturiertem Eiweiß hinweisen.

Mehr anhangsweise, als vielleicht interessierende Nebenergebnisse ohne Zusammenhang mit dem Thema des Titels, möchte ich mir erlauben anzuführen, daß es mir gelang, auch durch intraokulare Injektionen, ja durch Diszission der eigenen Linse, Meerschweinchen zu sensibilisieren und ebenso durch intraokulare Injektion und ausgiebigste Diszission den Ueber-

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF IOWA

empfindlichkeitsshock auszulösen, wenn auch dieses nur in schwächerem Grade anscheinend wegen der speziellen Verhältnisse der Meerschweinchenlinse, die nach Diszission nur sehr geringe Eiweißmassen zur Resorption kommen läßt. So einwandfrei sich die intraokulare Sensibilisierung durch Linseneiweiß erzielen ließ, so reserviert möchte ich die intraokulare Auslösung des Ueberempfindlichkeitsshocks bei völlig normalen intraokularen Verhältnissen in Betracht ziehen, da diese letztere nur bei intraokularer Zuführung größerer Eiweißmassen gelang, was sich technisch operativ nicht ohne Störung der normalen intraokularen Bedingungen erzielen ließ. Als Beitrag zur Theorie des Ueberempfindlichkeitsphänomens und der Bedeutung des Injektionsmodus für die Auslösung des Shocks ist von Interesse, daß es mir gelang, bei Meerschweinchen, die täglich 0,5 ccm inaktiviertes Rinderserum intraperitoneal bekamen, vom 10. Tage ab durch intrakardiale Injektion der gleichen Menge schwere toxische Erscheinungen auszulösen. Auch wiederholte weitere intracardiale Injektionen erzeugten keine Antianaphylaxie. Es scheint sich bei dem Phänomen der Unempfindlichkeit nach erzieltem Shock um eine ca. 10 Tage wirkende quantitative Absättigung zu handeln, da es mir nur durch am besten subkutane Zuführung größerer Mengen Antigens am sensibilisierten Tiere gelang, sichere Antianaphylaxie zu bewirken; ein Schutz, der aber schon nach 10 Tagen nicht mehr nachzuweisen war. Bei mehr als 200 Reinjektionen hat sich die Pfeiffersche Methodik der Temperatursturzbestimmung als ein in Ergänzung der anderen toxischen Symptome wertvolles und zuverlässiges Mittel zur objektiven Bestimmung der Ueberempfindlichkeit erwiesen.

Zusammenfassung.

Die durch biologische Reaktion nachweisbare nicht artspezifische Organspezifizität des Linseneiweißes ist aufzufassen als eine natürliche, im Wachstum bedingte Denaturierung eines ursprünglich in der Ektodermalzelle artspezifischen Eiweißes.

Ein auch biologisches Analogon bietet der Prozeß der Verhornung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3698

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA

Generated on 2019-01-12 22:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/iau.31858021094788
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF IOWA